

# 安捷伦新污染物分析应用文集



## 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。

新污染物不同于常规污染物，特指新近发现或被关注，对生态环境或人体健康存在风险，尚未纳入管理或者现有管理措施不足以有效防控其风险的污染物。

新污染物具有两大特点：

第一个特点是“新”。新污染物种类繁多，目前全球关注的新污染物超过 20 大类、每一类又包含数十或上百种化学物质。随着对化学物质环境和健康危害认识的不断深入以及环境监测技术的不断发展，可被识别出的新污染物还会持续增加，因此，联合国环境署对新污染物采用了“Emerging pollutants”这个词，体现了新污染物将会不断新增的特点。

第二个特点是“环境风险大”。主要体现在以下几个方面：

一是危害严重性。新污染物多具有器官毒性、神经毒性、生殖和发育毒性、免疫毒性、内分泌干扰效应、致癌性、致畸性等多种生物毒性，其生产和使用往往与人类生活息息相关，对生态环境和人体健康很容易造成严重影响。

二是风险隐蔽性。多数新污染物的短期危害不明显，即便在环境中存在或已使用多年，人们并未将其视为有害物质，而一旦发现其危害性时，它们已经通过各种途径进入环境介质中。

三是环境持久性。新污染物多具有环境持久性和生物累积性，可长期蓄积在环境中和生物体内，并沿食物链富集，或者随着空气、水流长距离迁移。

四是来源广泛性。我国现有化学物质约 4.5 万余种，每年还新增上千种新化学物质，这些化学物质在生产、加工使用、消费和废弃处置的全过程都可能存在环境排放，还可能来源于无意产生的污染物或降解产物。

五是治理复杂性。对于具有持久性和生物累积性的新污染物，即使达标排放,以低剂量排放进入环境，也将在生物体内不断累积并随食物链逐渐富集，进而危害环境生物和人体健康。因此,以达标排放为主要手段的常规污染物治理，无法实现对新污染物的全过程环境风险管控。此外，新污染物涉及行业众多，产业链长，替代品和替代技术不易研发，需多部门跨界协同治理。

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，国内外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，常见的新污染物还包括溴化阻燃剂、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，基于高端质谱等先进分析技术平台，开发了针对抗生素、PFAS 等高关注新污染物的高通量全流程分析方案，以及非靶向筛查等新污染物筛查方案，助力新污染物治理和监测工作的开展。

# 目录

## 液相色谱-质谱联用仪相关应用方案

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	5
在线固相萃取超高效液相色谱串联质谱法快速筛查环境水体中的常见农药残留	17
应用 UHPLC-MS/MS 测定环境水体与土壤基质中的六溴环十二烷和四溴双酚 A 类阻燃剂	21
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	25
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	30
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)	34

## 气相色谱-质谱联用仪相关应用方案

采用 Agilent 8890 气相色谱仪和 5977 GC/MSD 实现扩展校准范围的饮用水中半挥发性有机化合物分析	39
采用气质联用法一针进样、同时分析土壤中 147 种半挥发性有机物	41
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	47

## 微塑料分析相关方案

8700 LDIR 激光红外成像系统快速简单地表征地表水和处理后污水中的微塑料	53
使用单颗粒 (sp) ICP-MS 实现聚苯乙烯微塑料的粒径分析	55

## 新污染物非靶向筛查解决方案

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	58
使用高分辨率 Agilent 7250 GC/Q-TOF 分析废水出水样品以鉴定有毒化学物质	65
使用 UHPLC/Q-TOF MS 和精确质量数据库与谱库筛查和鉴定污水处理厂出水中的新兴污染物	71
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	77



# 液相色谱-质谱联用仪相关应用方案



## 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

### 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  $\mu\text{m}$  滤膜过滤后直接进样 20  $\mu\text{L}$  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 $\times$ 100 mm, 1.8 $\mu\text{m}$ (部件号: 959758-902)	
柱温	40 $^{\circ}\text{C}$	
进样量	20 $\mu\text{L}$	
流动相	A) 5 mmol/L 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 $\times$ 100 mm, 1.8 $\mu\text{m}$ (部件号: 959758-902)	
柱温	40 $^{\circ}\text{C}$	
进样量	20 $\mu\text{L}$	
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 $^{\circ}\text{C}$ (正) / 200 $^{\circ}\text{C}$ (负)
干燥气流速	16 L/min (正) / 12 L/min (负)
鞘气温度	380 $^{\circ}\text{C}$
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 <sub>1</sub> 和 MS <sub>2</sub> 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
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
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

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-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
Amcinonide	503.2	338.9	10	8.54	Methylphenidate	234.1	56.2	52	4.17
Amcinonide	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
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

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)
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	Norflouxetine	296.1	134.1	0	6.00
Budesonide	431.2	146.9	30	7.26	Norflouxetine	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
Butocarboxim	213	75	10	5.14	Norsertaline	275	159.1	16	6.33
Caffeine	195.1	138	20	3.20	Norsertaline	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

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)
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
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



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)
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
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

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)
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
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(I) (Diflucan)	307.1	238	10	4.11	Sulfanitran	336.1	293.9	8	6.07
Fluconazole(I) (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

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)
Fludrocortide/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
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

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)
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
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





## 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,绝大多数化合物检出限可低于 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。

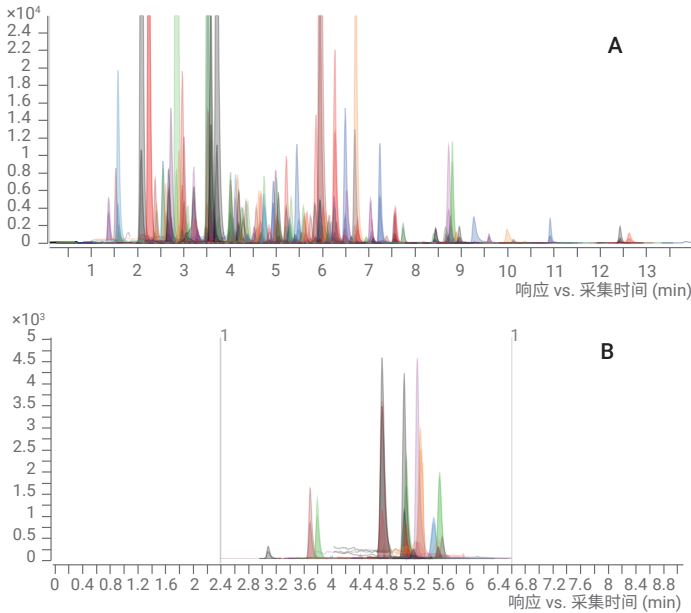


图 1. 377 种 PPCP 混合标准样溶液 (浓度 100 ng/L) 在正离子模式 (A) 和负离子模式 (B) 下的提取离子色谱叠加图

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。

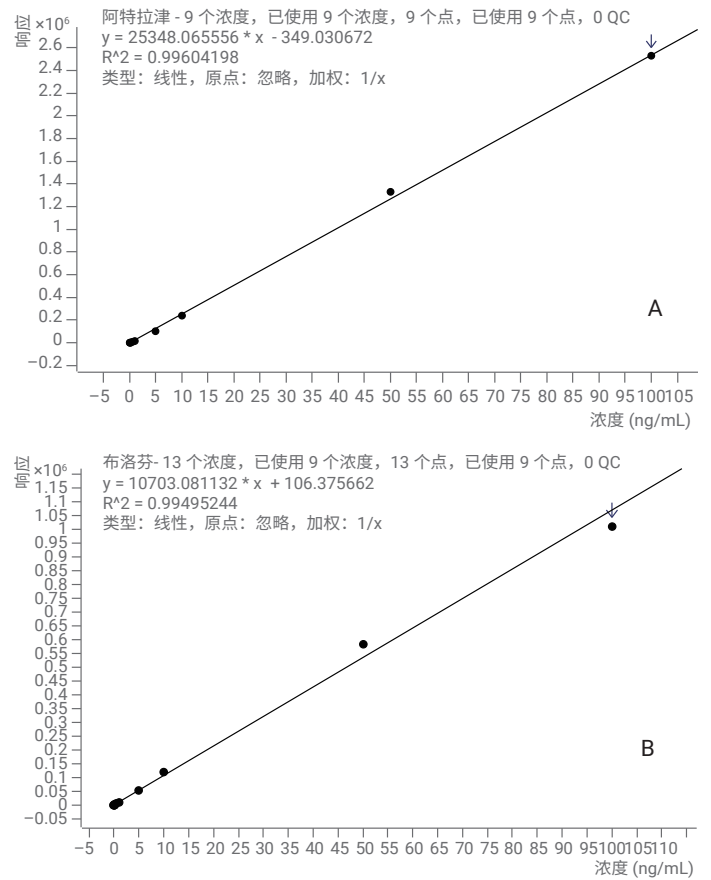


图 2. 阿特拉津 (A) 和布洛芬 (B) 的校准曲线 (浓度范围  $10 \times 10^5$  ng/L)

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。

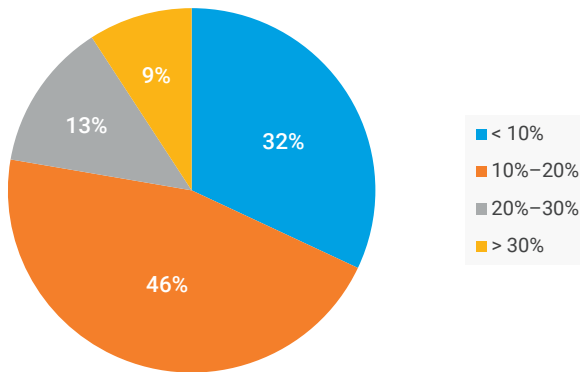


图 3. 100 ng/L 添加浓度下连续进样 7 针所得各化合物 RSD 分布图

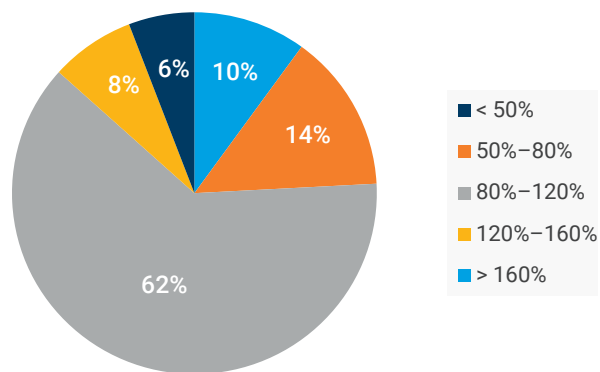


图 4. 100 ng/L 添加浓度下各化合物回收率分布图

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 μg/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

# 在线固相萃取超高效液相色谱串联质谱法快速筛查环境水体中的常见农药残留

## 试剂和样品

所有 111 种农药标准品购自 Sigma-Aldrich 公司 (Steinheim, Germany) 和 Dr. Ehrenstorfer 公司 (Augsburg, Germany)；所有 14 种同位素标记内标 (ILIS) 购自 Cambridge Isotope Laboratories (Andover, MA) 或 Alta Scientific (中国天津)，所有农药化合物列表见附件表 1；实验用甲醇、乙腈、甲酸和乙酸铵均为 LC 级，购自美国 J. T. Baker；实验用水均为 Millipore Milli-Q 超纯水系统现制备的高纯去离子水。实验用于基质添加的饮用水来自实验室龙头水，用于基质添加的地表水和污水处理厂出水以及实际污水处理厂出水样品均采自江苏常州某地。所有水样均经 0.45  $\mu\text{m}$  玻璃纤维膜过滤。

## 仪器和设备

Agilent 1260 Infinity II 四元泵和 1260 Infinity II 自动进样器用于在线 SPE 的样品上样和淋洗。Agilent 1260 Infinity II 二元泵用于洗脱富集在 SPE 小柱上的农药化合物至色谱柱进行分离。1260 Infinity II 柱温箱用于控制色谱柱的温度。色谱柱的流出液转入 Agilent 6470A 三重四极杆质谱仪进行检测。实验中所用色谱柱 (Zorbax Eclipse Plus C18, 150  $\times$  2.1 mm, 3.5  $\mu\text{m}$ ) 和在线 SPE 小柱 (PLRP-S, 2.1  $\times$  12.5 mm, 20  $\mu\text{m}$ ) 均来自安捷伦。

## 在线 SPE 样品前处理

在线 SPE 装置连接方法同之前安捷伦应用简报<sup>[8]</sup> 中的描述，见图 1。简单地说，实验采用两根 PLRP-S 在线 SPE 小柱，通过设置在柱温箱中的 Agilent InfinityLab 快速切换阀 (2 位 10 通阀) 将两个在线 SPE 小柱和四元泵、自动进样器、二元泵、色谱柱以及质谱仪连接起来。通过阀切换，实现两根在线 SPE 小柱的交替上样和洗脱。四元泵用于上样、富集、清洗和平衡在线 SPE 小柱，二元泵用于反向洗脱在线 SPE 小柱上富集的分析物到色谱柱上进行分离和检测。

在线 SPE 方法的具体参数见表 1。样品上样量为 1.8 mL。如果需要采用更大的上样量，可以参考安捷伦应用简报。

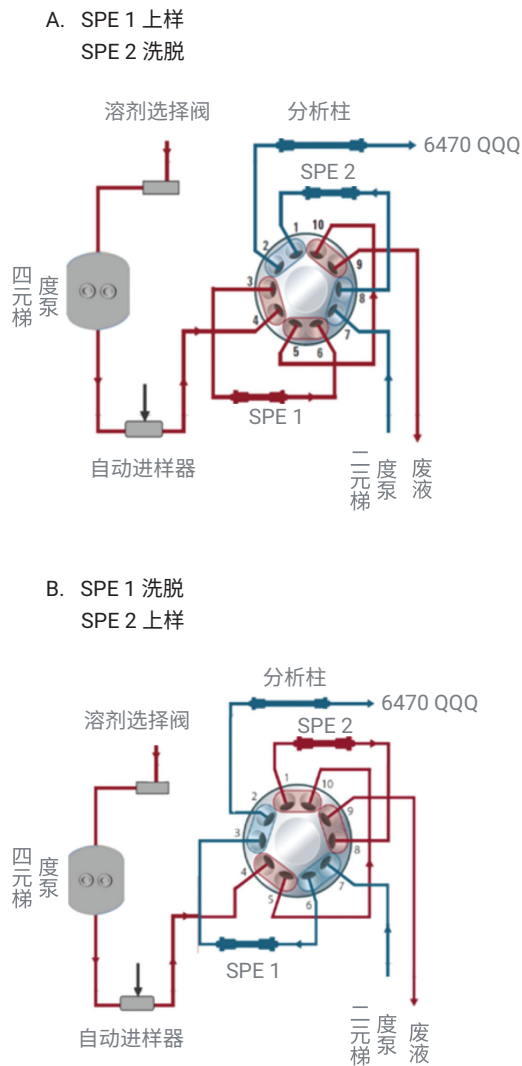


图 1. 在线 SPE 小柱交替上样与洗脱的连接及流路示意图

表 1. 在线 SPE 条件

富集泵	Agilent 1260 Infinity II 四元泵
自动进样器	Agilent 1260 Infinity II 自动进样器
在线固相萃取小柱	Agilent PLRP-S, 2.1 × 12.5 mm, 20 μm (部件号 5982-1271)
样品 pH	7.0
进样体积	1.8 mL
载样 / 淋洗溶剂	甲醇 / 0.05% 甲酸水溶液 (2:98, pH 4.0)
载样 / 淋洗速率	1.5 mL/min
SPE 柱清洗溶剂	甲醇/乙腈/异丙醇 (1:1:1)
SPE 柱清洗速率	1.0 mL/min
切换阀	Agilent InfinityLab Quick Change 快速更换 2 位/10 通阀
阀切换时间	4 min

表 2. 液相色谱条件

液相色谱系统	Agilent 1260 Infinity II 液相色谱系统
色谱柱	Agilent ZORBAX RR Eclipse Plus C18 column (2.1 × 150 mm, 3.5 μm (部件号 959763-902))
流动相	A : 0.05% 甲酸水溶液 ; B : 乙腈
柱温	30° C
流速	0.3 mL/min
梯度洗脱程序	0–6 min : 5% 乙腈 6–13 min : 5%–40% 乙腈 13–16 min : 40%–95% 乙腈 16–23 min : 95% 乙腈 23–28 min : 5% 乙腈

表 3. 质谱条件

质谱系统	Agilent 6470A 三重四极杆 LC/MS
离子化模式	正离子和负离子 ESI
毛细管电压	3.5 kV
雾化气 (N <sub>2</sub> ) 压力	310 kPa (45 PSI)
干燥气 (N <sub>2</sub> ) 温度	300° C
干燥气流速	7 L/min
鞘流气 (N <sub>2</sub> ) 温度	350° C
鞘流气流速	7 L/min
扫描模式	动态 MRM
多反应监测 (MRM) 参数	通过 Agilent MassHunter Optimizer 优化获取, 见附表 1
软件	Agilent MassHunter 采集/定性分析 / 定量分析软件包 8.0

## 结果与讨论

### 在线 SPE 小柱的选择

本方法采用 Agilent PLRP-S 在线 SPE 小柱。该小柱可以耐受全 pH 范围内的溶剂, 从而实现对较强极性和较弱极性化合物的广谱保留。本研究中针对拟检测的 111 种常见农药化合物, 在 100 ng/L 浓度下测试各化合物在 SPE 小柱上的回收率。如图 2 所示, 多达 108 种目标化合物在该 SPE 小柱上的回收率介于 80%–120% 之间, 仅有涕灭威亚砷 (化合物 57)、呋虫胺 (化合物 67) 和氧乐果 (化合物 76) 的回收率超出该范围 (分别为 59.9%、19.8% 和 19.2%)。表明该在线 SPE 小柱能够使绝大部分目标化合物获得较理想的回收率。在此基础上, 对影响在线 SPE 前处理的参数进一步进行优化。

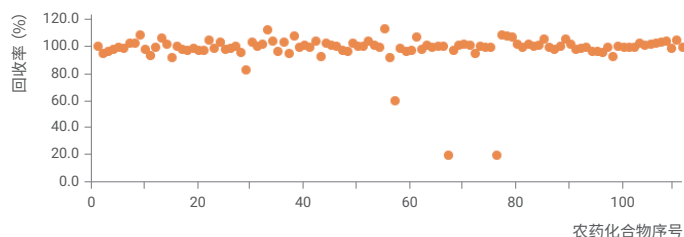


图 1. 农药标准混合溶液在在线 SPE 小柱上的回收率 (注: 农药化合物的序号与附表 1 一致)

### 在线 SPE 条件的优化

上样溶剂和淋洗溶剂的种类和体积会影响离线 SPE 过程中化合物在小柱上的回收率, 对在线 SPE 也存在类似的影响。由于本研究旨在直接进样分析环境水样, 因此所用的上样溶剂为水。淋洗溶剂用于去除样品中的干扰物质, 尤其是水样中的无机盐和强极性化合物, 从而降低此类基质对分析物离子化带来的负面影响。本研究分别选用 0%、2%、5%、10% 和 15% 的甲醇水溶液 (含 0.05% 甲酸) 作为淋洗溶剂进行测试, 结果如图 3 所示。在淋洗体积固定的条件下, 随着淋洗溶剂中甲醇含量的增加, 部分目标化合物在 SPE 小柱上的保留逐渐变弱, 会穿透小柱, 从而导致目标化合物在小柱上的回收率下降。涕灭威砷 (化合物 56)、涕灭威亚砷 (化合物 57)、灭多威 (化合物 63)、呋虫胺 (化合物 67)、氧乐果 (化合物 76) 和多菌灵 (化合物 105) 表现得尤其明显 (见图 3 及内插图)。这些化合物的极性较强, 保留较弱, 在使用甲醇含量为 10%–15% 的淋洗溶剂时所得到的回收率显著低于使用甲醇含量为 0% 和 2% 的淋洗溶剂时的结果。经过综合考虑, 选择 2% 的酸化甲醇水溶液作为淋洗溶剂。

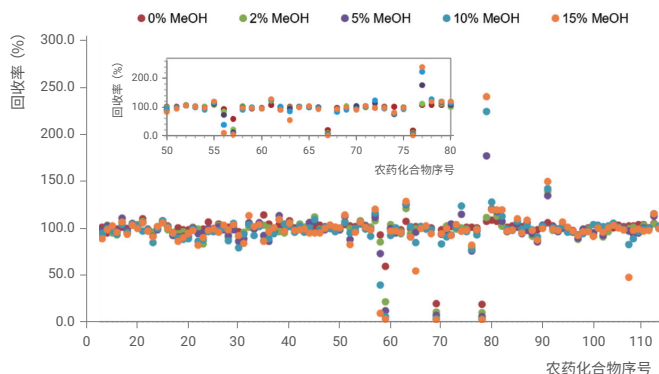


图 3. 甲醇含量不同的淋洗溶剂对农药标准混合溶液回收率的影响

即使淋洗溶剂中的甲醇含量很低，随着淋洗时间的增长，淋洗体积增大，一些弱极性化合物也有可能穿透 SPE 小柱，导致回收率下降。以易穿透的 6 种农药为例，涕灭威亚砷（化合物 57）、呋虫胺（化合物 67）和氧乐果（化合物 76）这三种化合物随着淋洗体积增加，回收率迅速下降；涕灭威砷（化合物 56）、灭多威（化合物 63）和多菌灵（化合物 105）在淋洗体积不超过 2.5 mL 时，回收率相对稳定，但是当淋洗体积增加至 3 mL 时，回收率也发生显著下降（结果如图 4 显示）。一般而言，化合物极性越高，淋洗时间越长，淋洗体积越大，则穿透越严重，由此导致回收率越低。但是，增加淋洗体积有利于降低基质效应。因此，经过综合考虑，选用的淋洗体积为 1 mL。

本研究进一步对其他 SPE 参数（例如阀切换时间、进样体积、载样速率）以及用于分离和检测的色谱和质谱参数进行了优化，最终确定的各参数见“实验部分”表 1、表 2 和表 3。获得的代表性色谱图如图 5 所示。绝大部分农药化合物的色谱峰形对称，峰宽较窄，响应高，可以满足更低浓度下检测的需求。

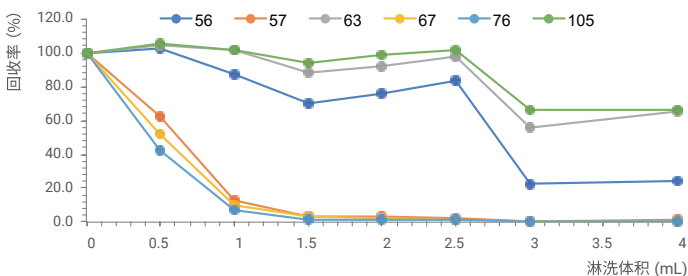


图 4. 六种极性较强的农药标准溶液的回收率随淋洗体积的变化

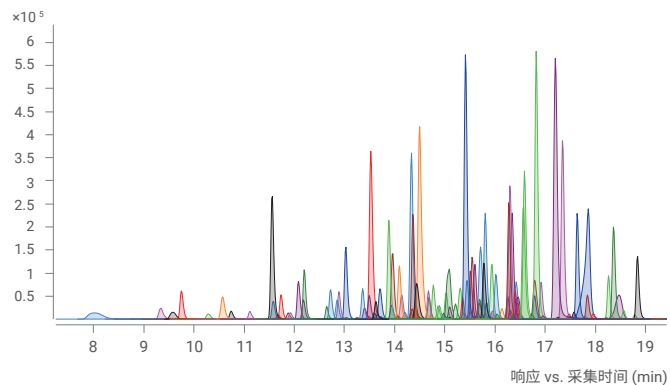


图 5. 111 种农药化合物的提取 MRM 色谱图（各化合物浓度均为 100 ng/L）

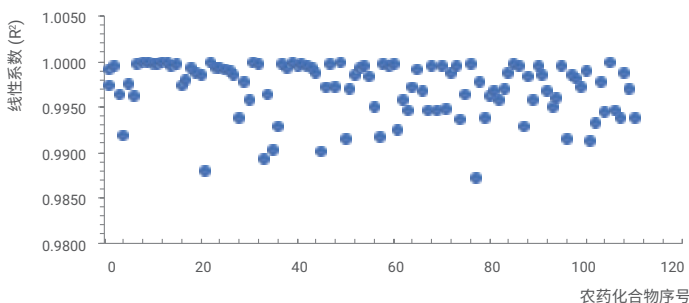


图 6. 111 种农药在 0.1–100 ng/L 浓度范围内的线性系数

### 检出限和定量限

选用三种代表性环境水体基质，包括饮用水 (DW)、地表水 (SW) 和污水处理厂出水 (WWE)，测定各农药化合物在这些基质中的检出限和定量限。结果如图 7 所示。所有化合物在 DW 中的检出限均低于 2.0 ng/L，且其中 107 种化合物的检出限介于 0.01–1.0 ng/L，其它 4 种化合物（二甲戊灵、茚虫威、敌敌畏和甲基异硫磷）的检出限为 1.0–2.0 ng/L。在 SW 和 WWE 中分别有 86 种和 79 种化合物的检出限低于 1.0 ng/L（最低值分别为 0.017 和 0.024 ng/L）；另外，在 SW 和 WWE 中分别有 13 种和 16 种化合物的检出限介于 1.0–2.0 ng/L 之间，分别有 10 种和 13 种化合物的检出限介于 2.0–5.0 ng/L 之间，分别有 2 种和 3 种化合物的检出限介于 5.0–6.5 ng/L 之间。

在 DW 中，92 种农药化合物的定量限介于 0.032–1.0 ng/L，其余 19 种化合物的定量限介于 1.0–5.5 ng/L 之间；在 SW 和 WWE 中，分别有 79 种和 67 种农药化合物的定量限低于 2.0 ng/L，且分别有 26 种和 35 种化合物的定量限介于 2.0–10.0 ng/L，分别有 6 种和 9 种化合物的定量限介于 10.0–21 ng/L 之间（见图 8）。

这些农药化合物的检出限和定量限与公开报道的在线 SPE 以及离线 SPE 方法相当，甚至更低，而且远低于《生活饮用水卫生标准》中规定的限量<sup>[2]</sup>，表明该方法的灵敏度完全满足测定各类环境水体基质中这些农药化合物的要求。



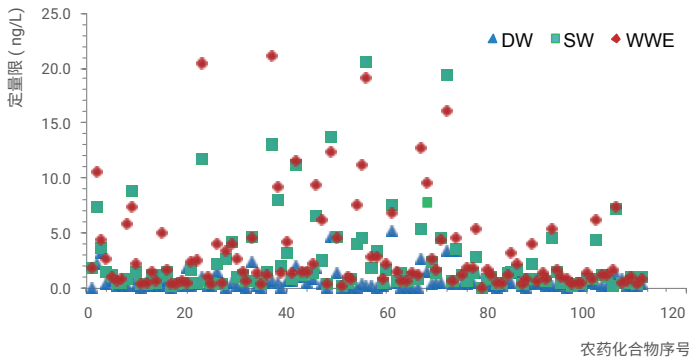


图 7. 三种环境水基质中 111 种农药化合物的检出限分布图

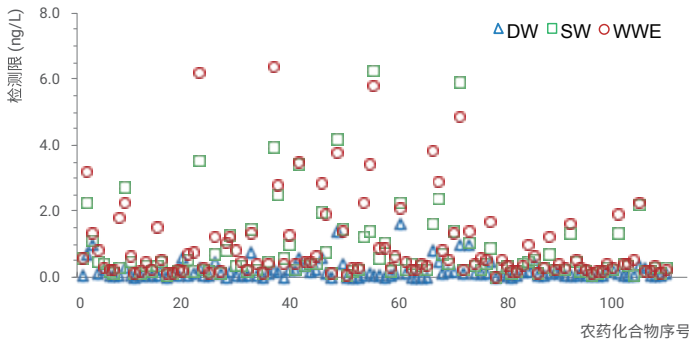


图 8. 三种环境水基质中 111 种农药化合物的定量限分布图



图 9. 所检测的农药化合物在不同基质中不同加标浓度下的回收率的分布

## 回收率和精密度

实验选择代表性 DW、SW 和 WWE 作为空白基质，分别向每种空白基质中添加 111 种农药化合物标准工作溶液，至终浓度分别为 5、25 和 100 ng/L，每种基质每个浓度水平重复 6 次。结果如图 9 所示。在各种基质的所有添加水平下，均有超过 85% 的农药化合物的加标回收率介于 70%–130% 之间。但是，有四种化合物（3-羟基克螨威、涕灭威、啉草酮和炔草酯）在至少一种基质中的加标回收率低于 30%，另有 6 种农药化合物（包括苄嘧磺隆、啉草酯、氨基草酮、五氟磺草胺、敌敌畏和乙螨唑）在至少一种基质中的回收率介于 150%–172.5%，其原因可能在于与这些农药化合物性质类似的基质组分被 SPE 柱保留，然后与目标化合物共流出，从而影响了目标化合物在电喷雾离子化时的响应。为进一步改善这些化合物的回收率，可以引入这几个化合物的同位素标记替代物到混合内标工作液中，使得针对这些化合物的基质效应可以得到更有效的校正。

日内和日间重复性考察发现，日内测量值的标准偏差介于 0.37%–26.16% 之间，其中 98% 的标准偏差低于 20%；日间测量值的标准偏差在 2.9%–28.5% 之间，其中 94% 的标准偏差低于 20%。以上回收率和重复性实验结果表明该方法准确、可靠。

## 实际水样测定

利用本文所开发的方法，测定从常州某地 9 个人口聚集区的污水处理厂出水和 3 个工业废水厂出水样品（共 12 个）。在 12 个样品中 111 种目标农药化合物的总共 1332 个检测数据中，61 种农药化合物在所有样品中均未检出，表明其残留风险极低，其他 50 种农药化合物在阳性样品中的检出水平介于亚纳克每升至微克每升之间。其中，有 12 种农药在所有阳性样品中的检出浓度均低于 5.0 ng/L，表明其残留风险相对较低。其余 38 种农药在至少一个样品中的检出浓度高于 5 ng/L。有 5 种农药在所有样品（无论是生活聚集区污水还是工业废水）中均有检出，包括多效唑 (0.58–11.05 ng/L)、阿特拉津 (1.77–171 ng/L)、啉虫脒 (4.35–30.4 ng/L)、敌草隆 (3.6–1621 ng/L) 和三唑醇 (0.43–21.8 ng/L)，表明这些农药残留非常普遍。值得关注的是，2,4-滴、氟磺胺草醚和敌草隆三种农药分别在一个样品中的检出浓度远高于 1000 ng/L，检出浓度分别为 2540.0 ng/L、3861.1 ng/L 和 1621 ng/L，而在其它样品中的浓度介于未检出到 64 ng/L 之间，表明不同区域的残留情况差异很大。另外，在 12 个样品中的 11 个样品检出多菌灵，且浓度均较高（介于 39.7–582 ng/L 之间，中位数为 336 ng/L），表明多菌灵残留量普遍较高。

# 应用 UHPLC-MS/MS 测定环境水体与土壤基质中的六溴环十二烷和四溴双酚 A 类阻燃剂

## 试剂和样品

HBCDs ( $\alpha$ -HBCD、 $\beta$ -HBCD、 $\gamma$ -HBCD) 和 TBBPA 及同位素标记的标准溶液 ( $^{13}\text{C}_{12}$ - $\alpha$ -HBCD、 $^{13}\text{C}_{12}$ - $\beta$ -HBCD、 $^{13}\text{C}_{12}$ - $\gamma$ -HBCD、 $^{13}\text{C}_{12}$ -TBBPA 和  $\text{D}_{18}$ - $\alpha$ -HBCD) 购自美国 Accustandard 公司；丙酮、二氯甲烷和正己烷均为色谱纯，购自美国 Honeywell；甲醇和乙腈为色谱纯，购自美国 Fisher 公司；硅胶 SPE 小柱 (1 g/6 mL) 由安捷伦提供；实验用水由 Milli-Q 超纯水系统制得。添加回收用的空白水为实验用水，空白土壤为石英砂。所有其它添加回收用的水样和环境土壤样品分别采自本地的水体和土壤。

## 样品前处理

### 水样

取 1 L 水样，按照图 1 所示的流程进行样品前处理。简而言之，1 L 水样经酸化后，向其中加入 20 ng 碳代同位素回收内标；经二氯甲烷液液萃取后，用无水硫酸钠脱水；然后用真空平行浓缩仪浓缩转溶至正己烷溶剂中；经 SPE 硅胶小柱净化，并将洗脱液氮吹转溶至甲醇溶剂中；向其中加入氘代同位素进样内标；并在涡旋过滤后，转移至进样瓶中，进样至 UHPLC-MS/MS 系统进行检测。

### 土壤样品

称量 10 g 制备好的自然风干土壤样品，向其中加入 20 ng 碳代同位素回收内标；以正己烷/丙酮 (V/V, 1/1) 作为提取溶剂进行加压流体提取，温度为 100 °C，压力 10.3 MPa，静态提取 5 min，循环 3 次；然后将提取液氮吹浓缩，转换溶剂为正己烷，参照水样的样品前处理方式进行净化富集（见图 1）。

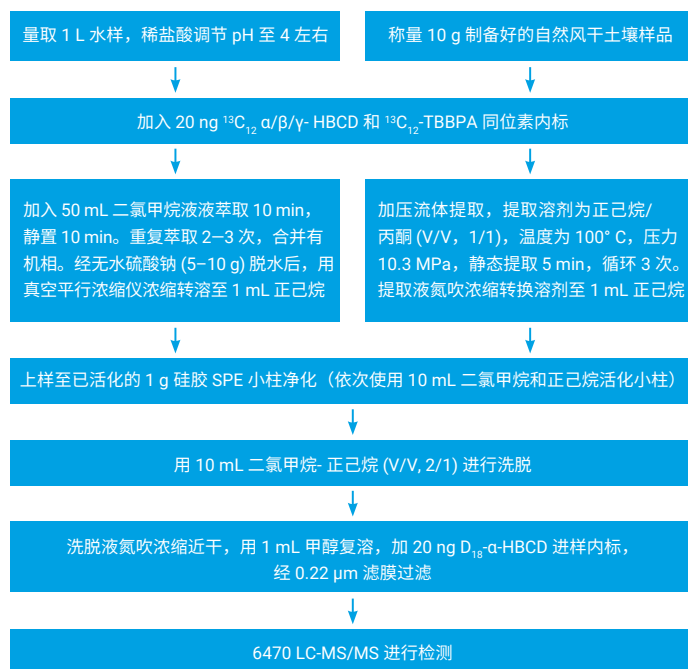


图 1. 在线 SPE 小柱交替上样与洗脱的连接及流路示意图

## 液相色谱-串联质谱 (LC-MS/MS) 分析

液相色谱和质谱仪器及运行条件见表 1 至表 3。

表 1. 液相色谱分析条件

LC 条件																	
液相色谱	Agilent 1290 Infinity II 液相色谱系统 (配备 G7120A 型二元泵、G7167B 型自动液体进样器和 G7116B 型柱温箱)																
色谱柱	Agilent RRHD Eclipse Plus C18, 2.1 × 100 mm, 1.8 μm (部件号: 959758-902)																
柱温	35 °C																
进样体积	5 μL																
流动相	A: 水 B: 乙腈																
后运行平衡时间	3 min																
流速	0.3 mL/min																
流速	0.3 mL/min																
梯度程序	<table border="1"> <thead> <tr> <th>时间 (min)</th> <th>B%</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>0</td><td>30</td></tr> <tr><td>2</td><td>70</td></tr> <tr><td>3</td><td>80</td></tr> <tr><td>5</td><td>80</td></tr> <tr><td>8</td><td>85</td></tr> <tr><td>8.1</td><td>95</td></tr> <tr><td>11</td><td>95</td></tr> </tbody> </table>	时间 (min)	B%	0	30	2	70	3	80	5	80	8	85	8.1	95	11	95
时间 (min)	B%																
0	30																
2	70																
3	80																
5	80																
8	85																
8.1	95																
11	95																

表 2. 质谱采集条件

MS 条件	
质谱仪	Agilent 6470 LC/MS/MS, 配备鞘流电喷雾离子源
离子化模式	负模式
鞘气温度	340 °C
鞘气流速	11 L/min
干燥气温度	280 °C
干燥气流速	6 L/min
雾化器压力	35 psi
毛细管电压	1500 V
喷嘴电压	2000 V

表 3. HBCDs 和 TBBPA 及其同位素内标的 MRM 采集参数

化合物名称	母离子 (m/z)	子离子 (m/z)	碎裂电压 (V)	碰撞能量 (V)
HBCD (α, β, γ)	640.6	79*/81	80	17*/10
<sup>13</sup> C <sub>12</sub> -HBCD (α, β, γ)	652.6	79*/81	80	11*/21
D <sub>18</sub> -α-HBCD	658.6	79*/81	80	11*/21
TBBPA	542.7	417.7*/291	200	46*/67
<sup>13</sup> C <sub>12</sub> -TBBPA	554.7	430.7*/296.7	200	40

## 结果与讨论

### 色谱与质谱条件的优化

利用 Agilent MassHunter Optimizer 软件, 对目标化合物及同位素内标进行质谱采集条件优化, 得到如表 3 所列的 MRM 质谱采集参数。在此基础上, 进一步优化质谱电喷雾离子源参数和液相色谱分离条件, 得到如表 1 和表 2 所列的优化后的分离和检测条件。按照上述优化后的条件, 在 Eclipse Plus C18 液相色谱柱上, 使包括 HBCDs 异构体在内的目标化合物获得了基线分离 (如图 2 所示), 为各目标化合物的准确定性和定量奠定了基础。

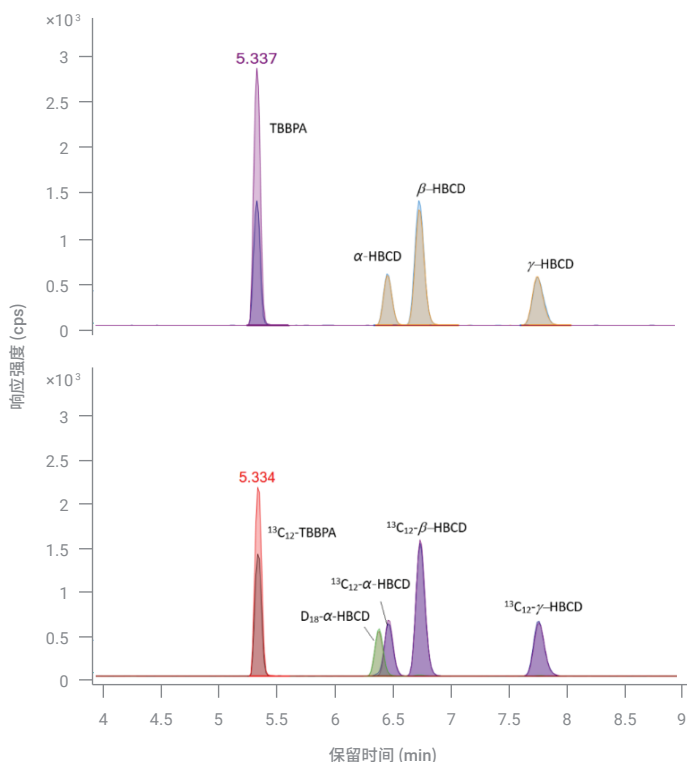


图 1. HBCDs 和 TBBPA 及其同位素内标的 MRM 色谱图 (20 μg/L)

### 样品前处理流程的优化

样品前处理的有效性直接影响测定结果的准确度和可靠性。基于实验室已有的工作, 针对水样, 在样品 pH ≤ 4 的情况下采用二氯甲烷作为萃取溶剂重复萃取 2-3 次, 并选用二氯甲烷-正己烷混合溶剂 (V/V, 2/1) 作为 SPE 小柱洗脱溶剂, 当洗脱体积为 10 mL 时能够实现对目标化合物的有效回收。具体的样品前处理流程见图 1。同样, 基于实验室已有的工作, 对土壤样品的提取方式和提取溶剂进行了优化, 最终采用加压流体提取的方式, 并以丙酮/正己烷 (V/V, 1/1) 作为提取溶剂, 确保即使相对复杂的基质样品中的 HBCDs 和 TBBPA 也能够获得理想的提取效率。

对于净化柱的选择，文献报道多采用以硅胶填充的 SPE 小柱。小柱的填料载量对于样品除杂的效果影响较大。实验发现，对于各种环境水体和环境背景土，采用 1 g 硅胶 SPE 小柱足以保证除杂的有效性。但对于基质复杂的沉积物以及工业土壤，建议采用载量更大的硅胶 SPE 小柱，例如 5-10 g 的硅胶小柱或自填充的混合硅胶柱；如果考虑环境友好性，尽量不增加淋洗和洗脱体积，则建议通过减少取样量的方式降低基质干扰，例如将取样量减少至 2 g。

### 方法的线性

在 0.5 μg/L 至 100 μg/L 的浓度范围内考察方法的线性。采用同位素内标稀释法获得校准曲线，结果如图 3 所示。从图中可以看出，HBCDs 和 TBBPA 在 0.5 μg/L 至 100 μg/L 的浓度范围内线性关系良好，四种目标分析物的线性回归曲线决定系数 ( $R^2$ ) 均大于 0.999。

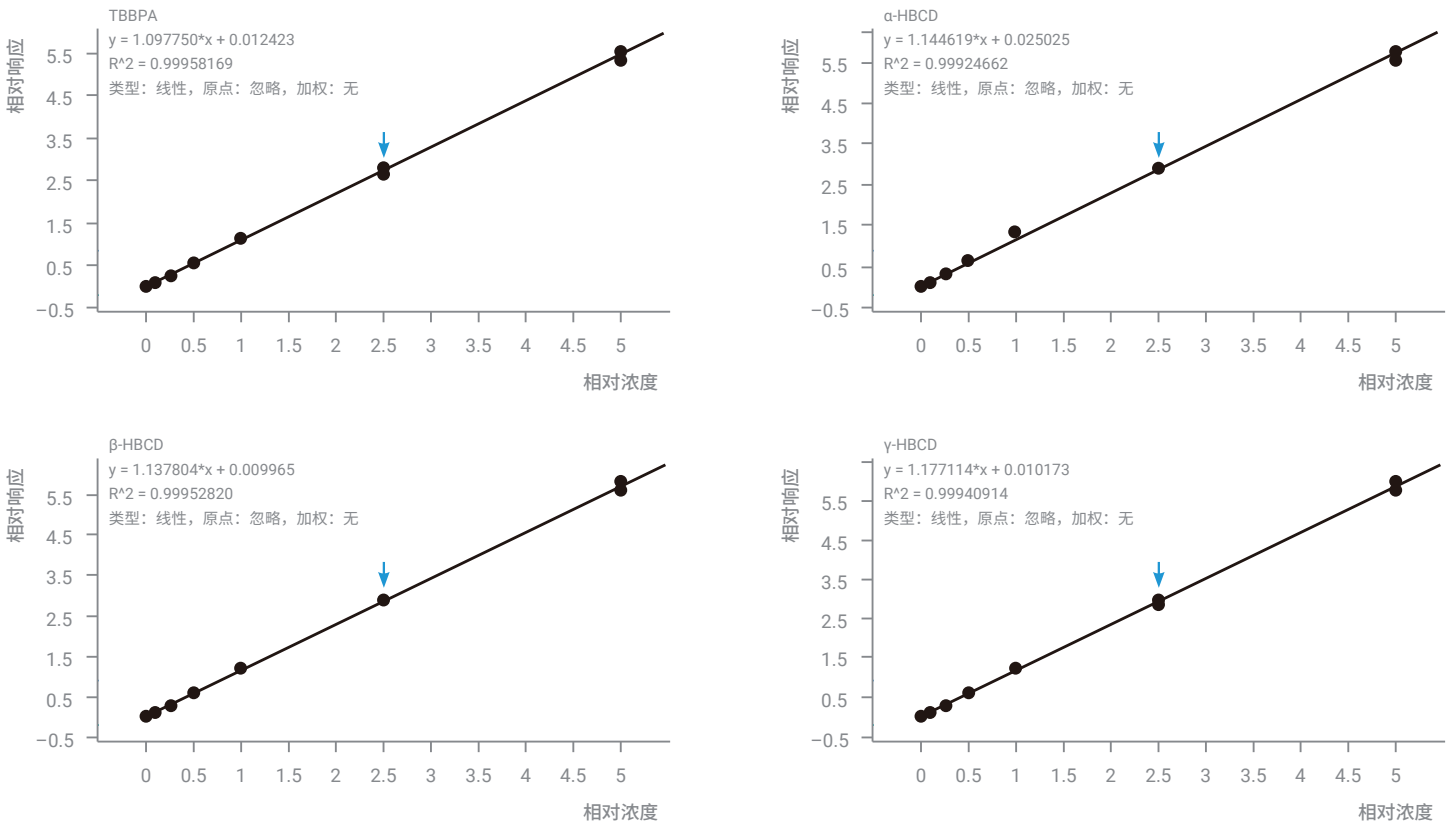


图 3. HBCDs 和 TBBPA 的校准曲线 (0.5-100 μg/L)

### 色谱保留时间稳定性和色谱分离度

通过分析 90 个不同批次的实际样品，用其中添加的同位素内标的保留时间来评价保留时间的稳定性，结果如图 4 所示。所有碳代和氘代同位素内标在 90 批次的样品中保留时间非常稳定，相对标准偏差在 0.15%-0.38% 之间，同时 HBCDs 的各异构体之间获得了基线分离，表明该方法具有优异的保留时间稳定性和良好的分离能力，可以满足 HBCDs 各异构体的准确定性和定量要求。

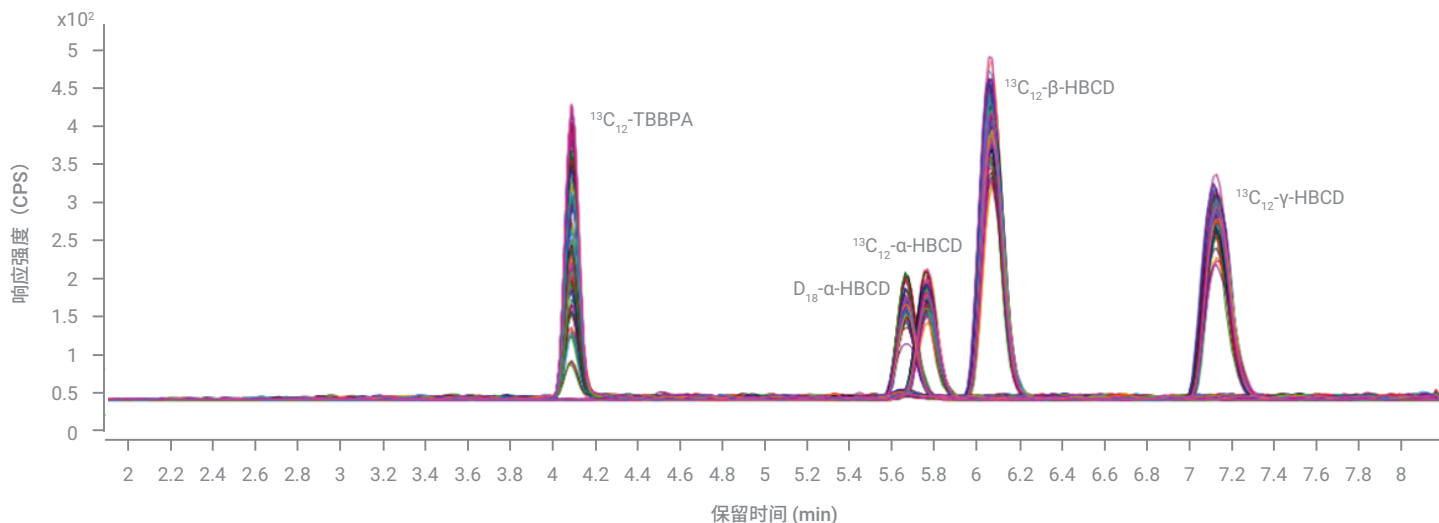


图 4. 90 个实际样品中同位素内标叠加的MRM色谱图

### 方法检出限与定量限

依据 HJ 168-2020 《环境监测分析方法标准制订技术导则》要求选用空白实验中未检出目标物质的样品作为空白样品，并且对于空白水样与空白土壤样品，分别以 2 ng/L 和 0.2 μg/kg 的加标浓度作为检出限测定浓度配制 7 份平行样品进行测定，然后按如下公式计算方法检出限和定量限：

$$MDL = t_{(n-1,0.99)} \times S ; \quad MQL = 4 \times MDL$$

式中：MDL — 方法检出限；n — 样品的平行测定次数；t — 自由度为 n-1，置信度为 99% 时的 t 分布值（单侧） $t_{(7-1,0.99)} = 3.143$ ；S — n 次平行测定的标准偏差；MQL — 方法定量限，定义为 4 倍的检出限。所得结果列于表 4 中。从表中可以看出，水样中各化合物的方法检出限为 0.3–0.5 ng/L，方法定量限为 1.2–2.0 ng/L；土壤中各化合物的方法检出限为 0.04–0.06 μg/kg，方法定量限为 0.16–0.24 μg/kg，表明该方法具有出色的灵敏度。

表 4. 方法检出限和定量限测试结果

样品		α-HBCD	β-HBCD	γ-HBCD	TBBPA
空白水	平均浓度 (ng/L) (n = 7)	2.0	2.1	2.1	2.1
	标准偏差 Si (ng/L)	0.11	0.14	0.14	0.10
	方法检出限 (ng/L)	0.4	0.5	0.5	0.3
	方法定量限 (ng/L)	1.6	2.0	2.0	1.2
空白土壤	平均浓度 (μg/kg) (n = 7)	0.21	0.21	0.21	0.18
	标准偏差 Si (μg/kg)	0.02	0.01	0.01	0.02
	方法检出限 (μg/kg)	0.06	0.04	0.04	0.06
	方法定量限 (μg/kg)	0.24	0.16	0.16	0.24

### 方法准确度和精密度

分别采用不同水体基质制备目标物浓度为 5、20 或 100 ng/L 的加标样品；并制备加标浓度分别为 0.5、2 或 10 μg/kg 空白土加标样品，以及加标浓度为 2 μg/kg 的环境背景土加标样品。每种基质每个水平下制备 6 个平行样，以此评估该方法的准确度和精密度。所得结果如图 5 所示。不同水体基质中 4 种目标化合物的加标回收率在 91.8%–117% 之间，且测定结果的相对标准偏差在 3.1%–11.9% 之间；空白土、环境背景土壤中 4 种目标物的加标回收率在 86.1%–108% 之间，且测定结果的相对标准偏差在 5.1%–13.1% 之间。结果表明，该方法具有出色的准确度和精密度，能够满足所测基质中目标化合物的准确定量要求。

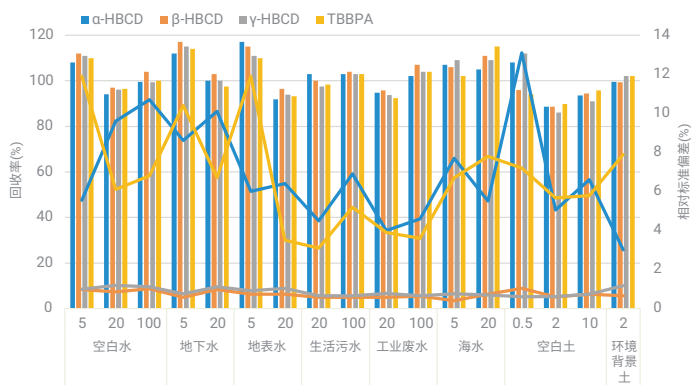


图 5. 不同基质中各加标浓度下目标化合物的加标回收率（簇状柱形图）和相对标准偏差（折线图）



# 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

### 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  $\beta$ -内酰胺类药物)、22 种 PFASs (例如全氟烷基羧酸 (PFCAs, C<sub>4</sub> 至 C<sub>13</sub>) 和全氟烷基磺酸 (PFASAs, C<sub>4</sub>、C<sub>6</sub>、C<sub>8</sub> 和 C<sub>10</sub>) ) 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  $\mu\text{m}$  外，其余所有小柱的规格均为 2.1  $\times$  12.5 mm，填料粒径为 5  $\mu\text{m}$ 。

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。

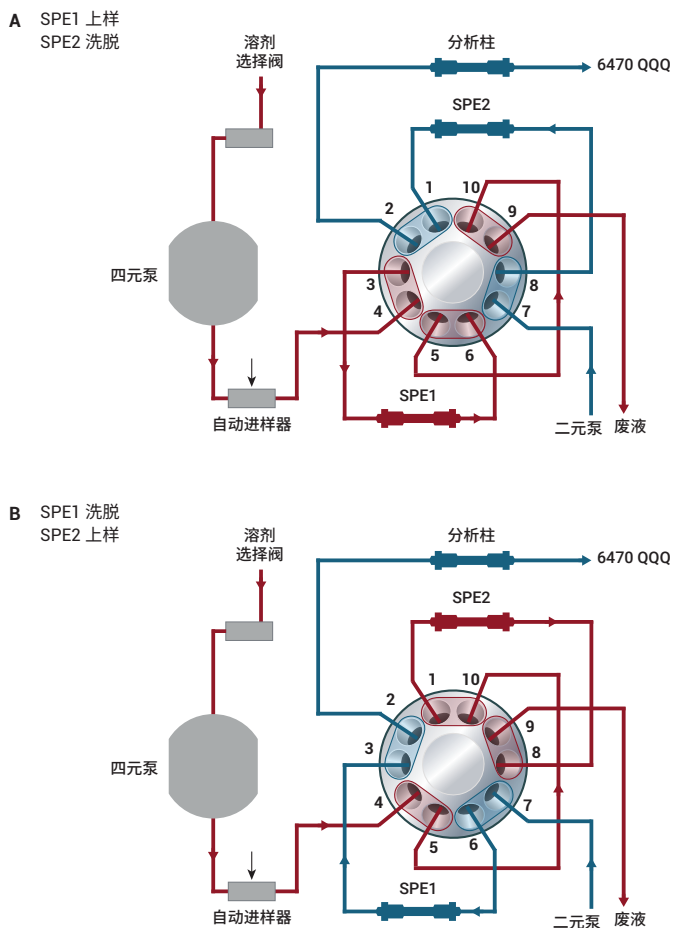


图 1. 用于两个 SPE 小柱交替上样和洗脱的阀位置

## 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 <sub>2</sub> ) 压力	45 psi
干燥气 (N <sub>2</sub> ) 温度	300 °C
干燥气流速	7 L/min
鞘气 (N <sub>2</sub> ) 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)。



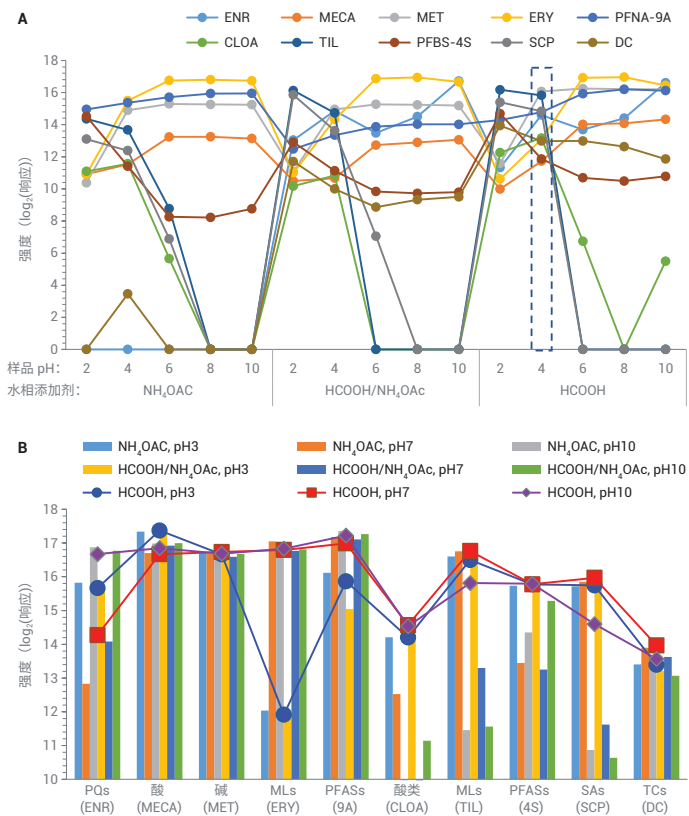
图 2. 3 种 pH 条件下, 代表性分析物在 6 种不同 SPE 小柱上的绝对回收率

### 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。

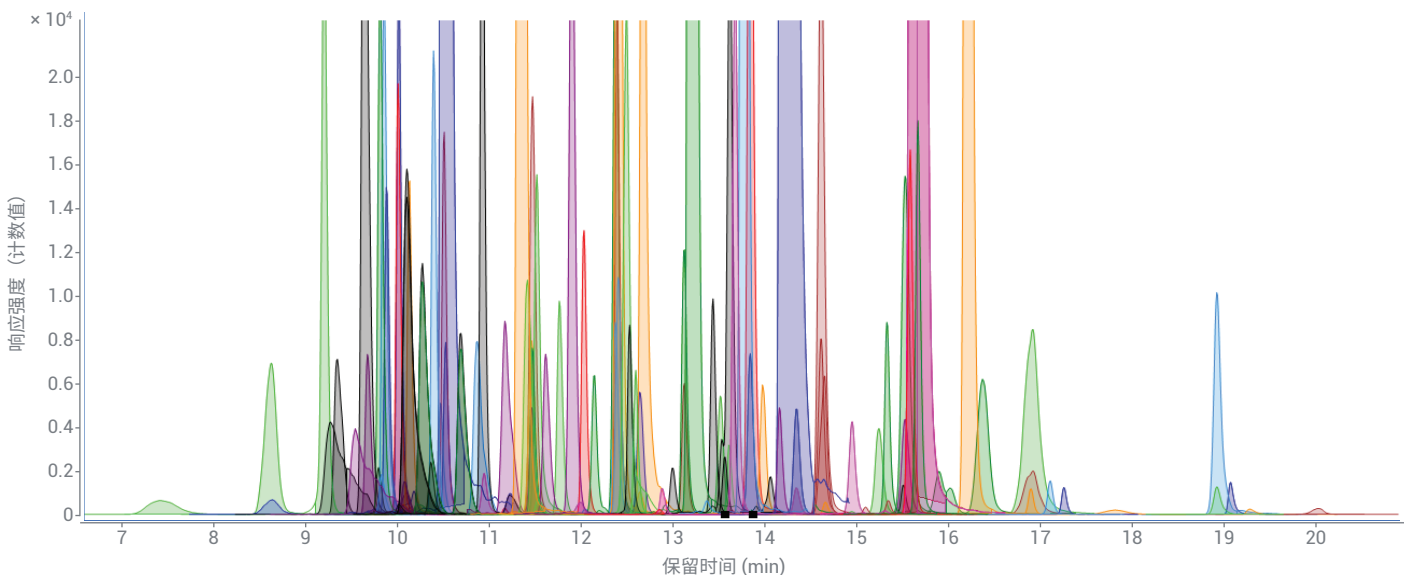


**图 3.** LC 分离和在线 SPE 条件的多参数优化。(A) 流动相添加剂 (5 mmol/L NH<sub>4</sub>OAc、0.05% HCOOH 和 0.05% HCOOH/5 mmol/L NH<sub>4</sub>OAc) 和样品 pH (2-10) 对代表性分析物响应的综合影响；(B) 水性上样/淋洗溶剂添加剂 (纯水 (pH 6-7)、0.05% HCOOH (pH 2.66) 和 0.005% 氨水 (pH 10)) 和样品 pH (3、7 和 10) 对代表性分析物响应的综合影响。**注：**B 中的系列标签用于上样/淋洗溶剂-样品 pH 值组合

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) 三种环境水基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。

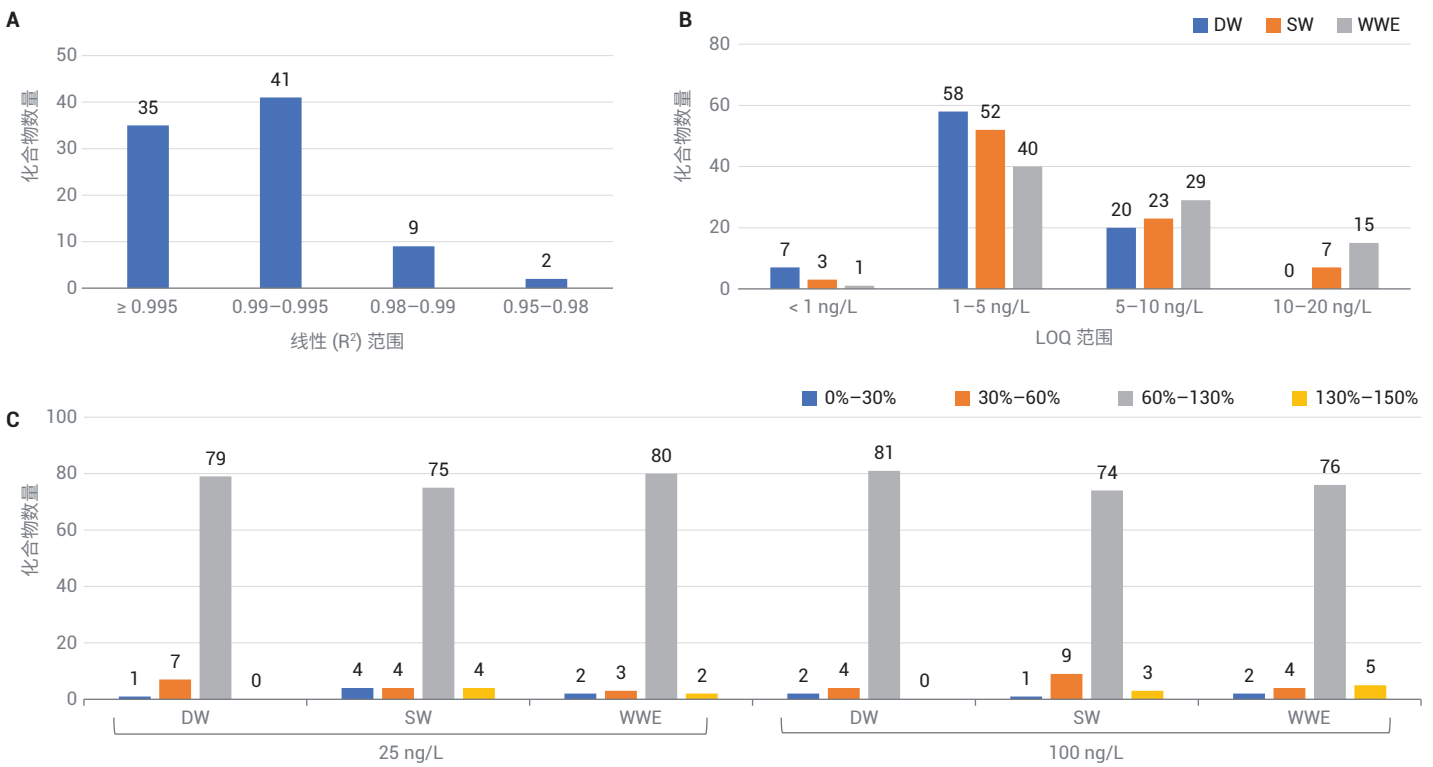


图 5. 方法性能评估。(A) 纯水中 1–200 ng/L 范围内的线性；(B) DW、SW 和 WWE 中的定量限；(C) DW、SW 和 WWE 中加标浓度为 25 ng/L 和 100 ng/L ( $n = 3$ ) 的回收率

# 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

### 材料和试剂

PFOA、PFOS、 $^{13}\text{C}_4$ -PFOA 和  $^{13}\text{C}_4$ -PFOS 储备标准溶液购自加拿大 Wellington Laboratories，各自浓度为 50.00  $\mu\text{g}/\text{mL}$ （溶于甲醇）。甲醇、乙腈、乙酸、乙酸铵和氢氧化铵 ( $\text{W}\% = 20\%$ ) 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 M $\Omega$ ）。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  $^{\circ}\text{C}$  下避光储存在聚丙烯装置中，在两周内净化，并在一个月内进行分析。

### 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  $^{13}\text{C}_4$ -PFOA 和  $^{13}\text{C}_4$ -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  $^{\circ}\text{C}$  下用氮气干燥至近干
7. 然后，通过充分涡旋将残余物溶解在 1 mL 甲醇中
8. 使用 0.22  $\mu\text{m}$  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 ( $\pm 0.1$ ) g 干燥样品转移到 100 mL 聚丙烯管中。然后，将 10 ng 每种内标 ( $^{13}\text{C}_4$ -PFOA 和  $^{13}\text{C}_4$ -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  $^{\circ}\text{C}$  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	A) 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<sup>[7]</sup>并消除共洗脱干扰，实现准确定量。

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

## 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 µg/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。

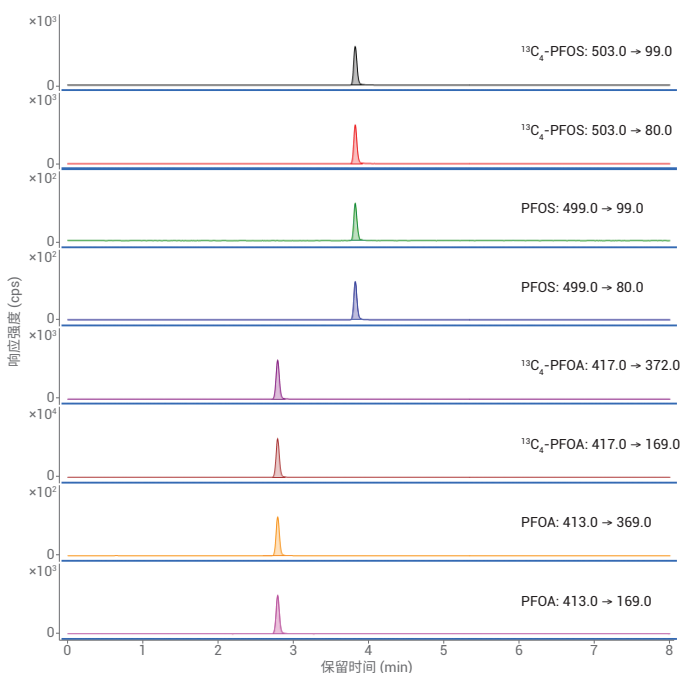


图 1. 使用 Ultivo LC/TQ 获得的 PFOA、PFOS 及其同位素标记类似物的典型 MRM 色谱图

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 µg/L，每种内标浓度为 10 µg/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。

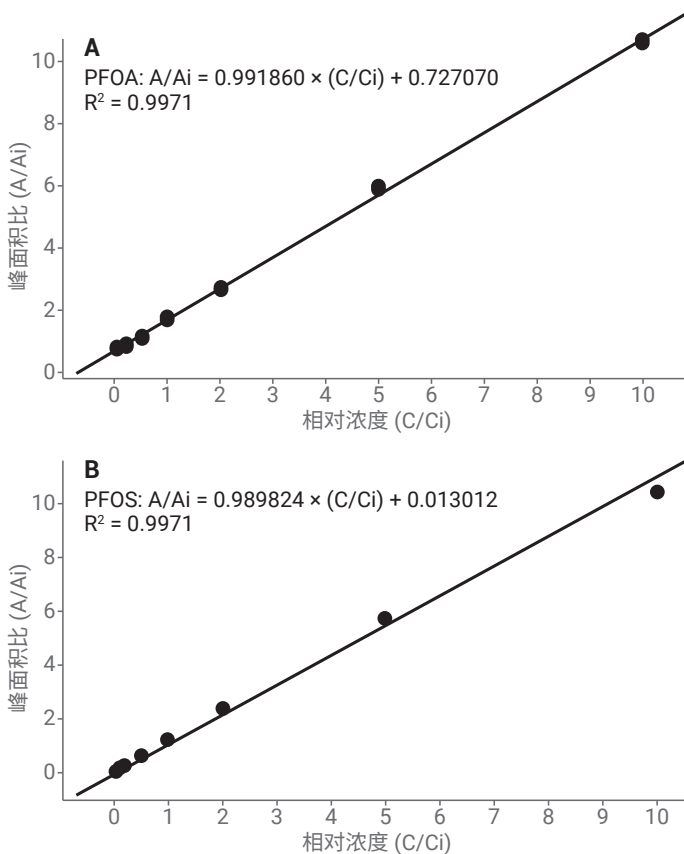


图 2. 测试浓度范围内的 PFOA 和 PFOS 校准曲线

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 µg/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。

### 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。

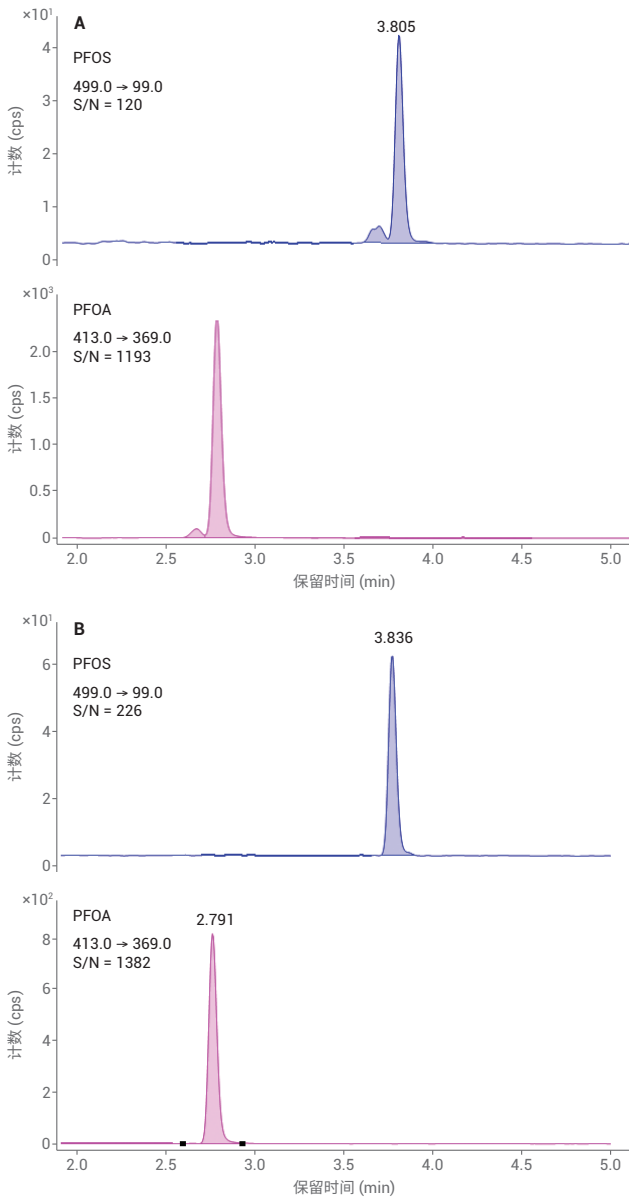


图 3. PFOA 和 PFOS 的色谱图，(A)：加标浓度为 2.5 ng/L 的水；(B) 加标浓度为 0.5 μg/kg 的空白土壤。注意：每种化合物仅显示定量离子色谱图

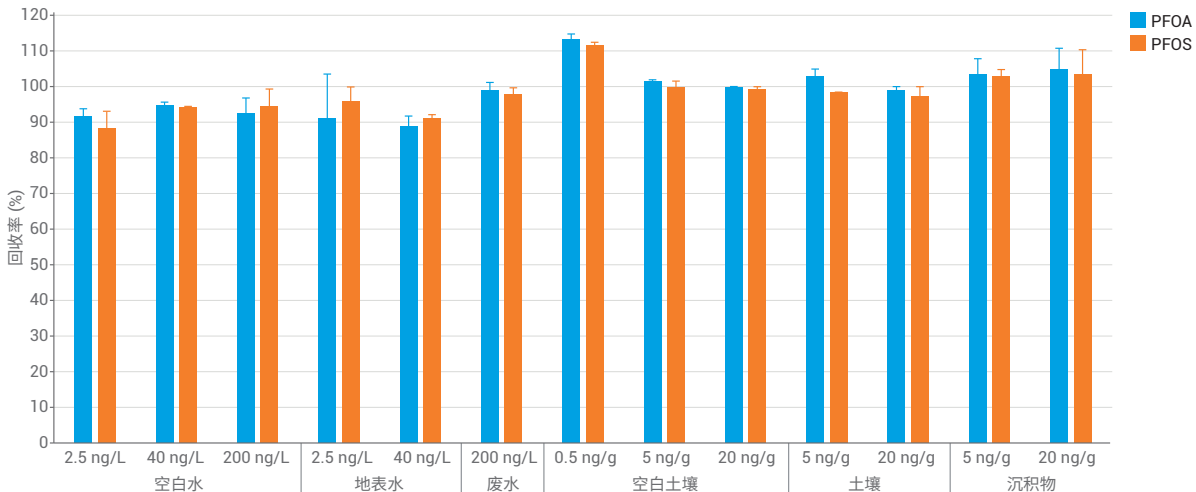


图 4. 测试的水和土壤基质中每种加标浓度下的 PFOA 和 PFOS 回收率

# 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)

## 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, 以便用于 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<sup>[3,4]</sup>。

## 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<sup>[5]</sup>。

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 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

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-PF30UdS	无	631	451	70	38
两种方法	11Cl-PF30UdS	无	631	85	70	30
533	PFDoA-13C2	有	614.9	570	104	5
两种方法	PFDoA	无	613	268.7	100	7
两种方法	PFDoA	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-PF30UdS	无	531	351	100	28
两种方法	9Cl-PF30UdS	无	531	351	98	20
两种方法	9Cl-PF30UdS	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

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	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
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	4-2 FTS-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

## 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  $\mu\text{m}$  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。

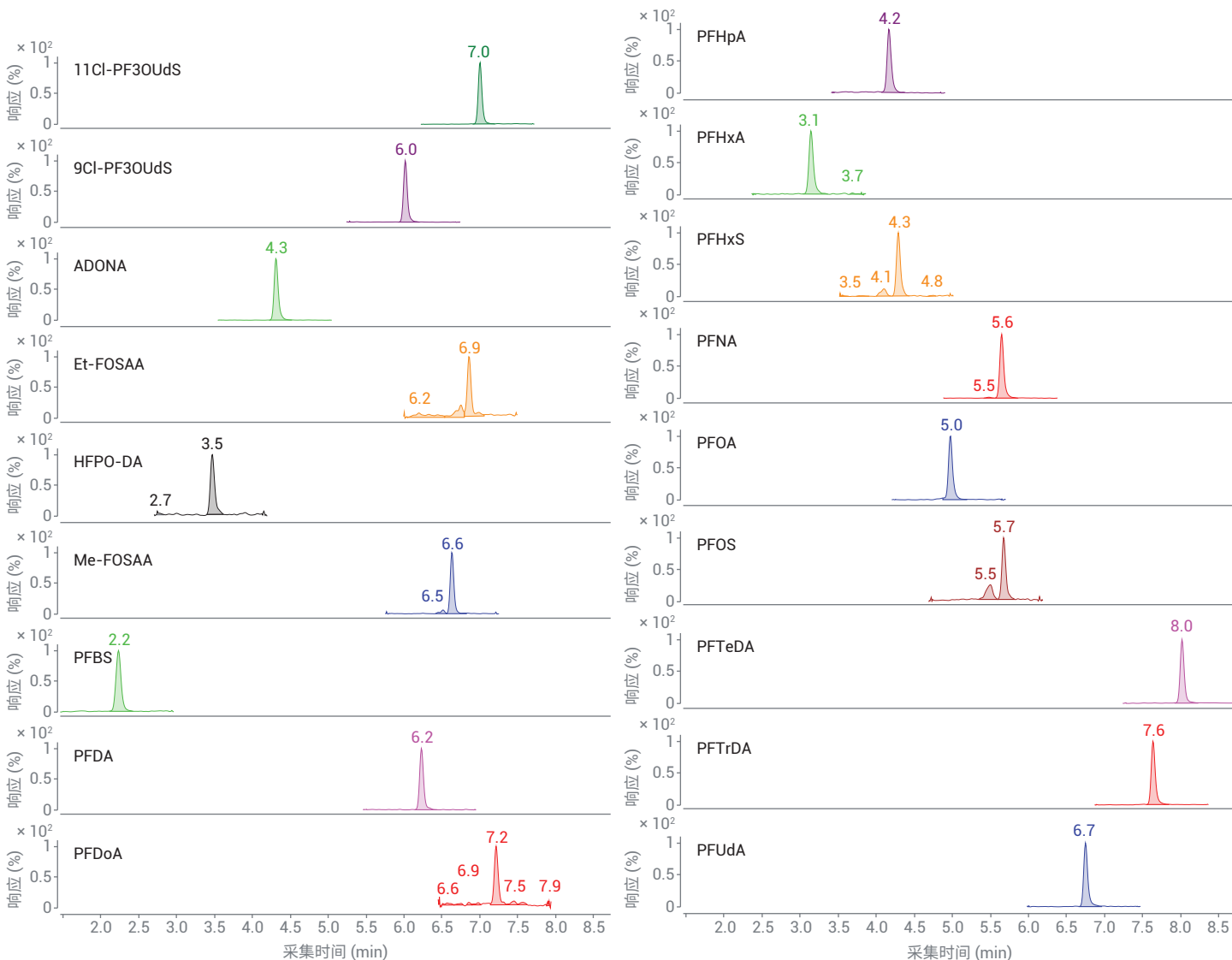


图 1. 采用 EPA 537.1 分析饮用水中加标浓度为 2 ng/L 的 18 种 PFAS 得到的 MRM 色谱图

## 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。



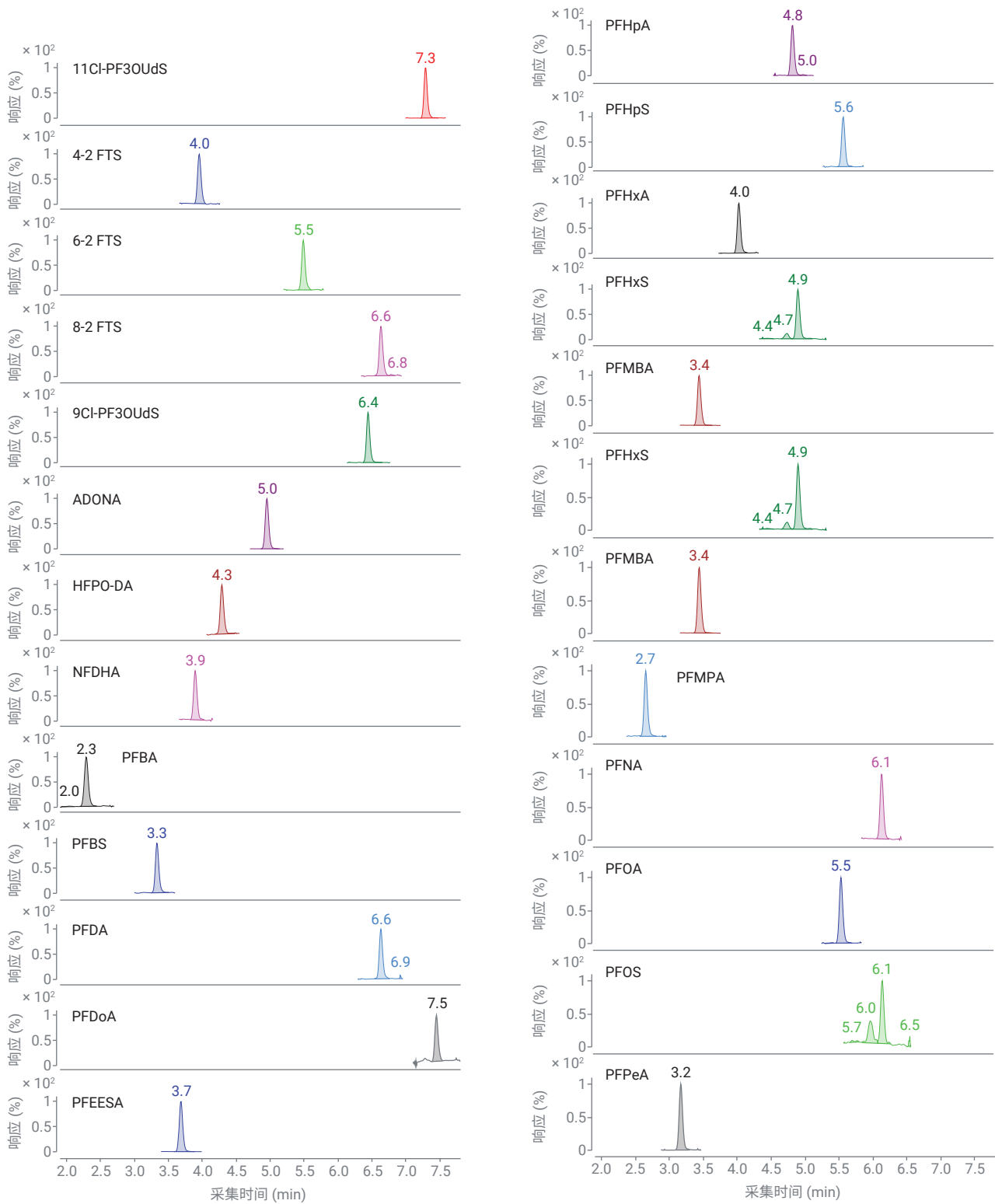


图 2. 使用 EPA 533 方法时实验室加标空白 (1 ng/L) 中 25 种 PFAS 的提取 MRM 色谱图 (定量离子对)

## 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，计算方法检出限值 (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 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。该检出限远低于 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。

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%
PFTTrDA	-	-	103%	5%	-	-	110%	9%
PFUnA	-	-	98%	4%	-	-	104%	9%

# 气相色谱-质谱联用仪相关应用方案



## 采用 Agilent 8890 气相色谱仪和 5977 GC/MSD 实现扩展校准范围的饮用水中半挥发性有机化合物分析

### 样品前处理

三种浓度为 100 ng/μL 的半挥发性物质 (SVM-525)、有机氯农药 (PPM-525E) 和氮/磷农药 (NPM-525C) 的多组分标准品购自安捷伦 (前 Ultra Scientific)，混合以配制储备液。用乙酸乙酯稀释等分的储备液，配制大多数化合物 (附录表 A1) 的校准标准溶液，浓度为 0.02、0.05、0.10、0.20、0.50、1.0、2.53、5.0、10 和 15.3 ng/μL。顺式和反式氯菊酯异构体在有机氯农药标准品中总浓度为 200 ng/μL。假设混合物为等摩尔，浓度接近前文列出的浓度。五氯酚在半挥发性混合物中的浓度为上述浓度的 4 倍。MGK-264 以异构体混合物形式存在，在氮/磷农药标准品中总浓度为 100 ng/μL，本研究鉴定了两种主要异构体。各自分别定量，假定浓度为上文所列浓度水平的一半。甲草胺和莠去津存在于两种混合物 (有机氯农药和氮/磷农药) 中，因此每个校准水平下的校准标样浓度均为上述浓度的 2 倍。向每个校准标样中添加内标和替代物 (ISM-510)，使每个校准水平的浓度为 5 ng/μL。

之前的研究使用 Intuvo 9000C GC/MSD 对 EPA 525 进行测试，考察了不同的拉出极尺寸：3 mm、6 mm、9 mm。研究表明，9 mm 拉出极比 3 mm 拉出极更为理想，因为随着直径的增加，在更宽的动态范围内呈现出的结果更优秀<sup>[5]</sup>。基于上述研究，本研究重点使用 9 mm 拉出极。

### 仪器

表 1. GC 和 MSD 仪器与消耗品

参数	值
GC	8890 GC
MS	配备惰性 EI 源的 5977 GC/MSD
拉出极	9 mm (部件号 G3870-20449)
色谱柱	Agilent DB-8270D 超高惰性柱, 30 m × 0.25 mm × 0.25 μm (部件号 122-9732)
衬管	带玻璃毛的安捷伦超高惰性不分流单径锥衬管 (部件号 5190-2293)
进样口隔垫	安捷伦高级隔垫, 绿色, 不粘连, 11 mm (部件号 5183-4759, 50/包)
自动进样器	Agilent 7650A 自动液体进样器
样品瓶	Agilent A-Line 认证棕色样品瓶 (螺口盖), 100/包 (部件号 5190-9590)
样品瓶内插管	安捷伦去活样品瓶内插管, 100/包 (部件号 5181-8872)
螺口盖样品瓶	安捷伦螺口盖, PTFE/硅橡胶/PTFE 隔垫, 瓶盖尺寸: 12 mm; 500/包 (部件号 5185-5862)

## 结果与讨论

### 仪器性能验证

根据 EPA 方法 525, GC/MS 必须通过仪器适用性测试才能分析样品。该测试策略包括仪器性能检测 (IPC) 标准品, 其中包含 DFTPP、异狄氏剂和 4,4'-DDT, 用于验证 MSD 调谐和系统流路惰性。版本 525.2 和 525.3 要求 DFTPP 需通过调谐检查, 且 4,4'-DDT 分解率需低于 20%。方法 525.2 还规定, 对于宣称适用的系统, 异狄氏剂的分解率应低于 20%<sup>2,3</sup>。8890 GC 和 5977 MSD 的 IPC 测定结果请参见其他文献<sup>6</sup>。

图 1 说明了使用 35 分钟方法，目标化合物、替代物和内标的分离情况。在 EPA 方法 525.2 中，必须显示两组异构体的色谱分离度，特别是分别使用蒽和菲以及苯并[a]蒽和蒽的分析。蒽和菲需要达到基线分离，而苯并[a]蒽和蒽需要的最小分离度为 25%。分离度测定为峰谷高度与两种化合物平均峰高（中等浓度水平）之比。图 1 展示了中等浓度 2.5 ng/μL 的所有目标化合物和 5 ng/μL 的内标和替代物的分离情况。图 2A 展示了蒽和菲 (m/z 178) 的提取离子色谱图 (EIC)。图 2B 展示了在 1.0 ng/μL 浓度下，苯并[a]蒽和蒽 (m/z 228) 的 EIC。菲和蒽异构体显示出基线分离，而苯并[a]蒽和蒽异构体则几乎达到基线分离；两个异构体组合都通过了方法标准。

## 仪器条件

表 2. GC 和 MSD 仪器条件

参数	值
进样量	1 μL
进样口	分流/不分流 250 °C 脉冲不分流 50 psi 持续 1 min 1 min 时吹扫流速为 50 mL/min 切换为隔垫吹扫
柱温程序	40 °C (保持 1 min) 25 °C/min 至 160 °C (保持 3 min) 6 °C/min 至 312 °C
载气和流速	氦气, 1.2 mL/min, 恒流
传输线温度	270 °C
离子源温度	320 °C
四极杆温度	200 °C

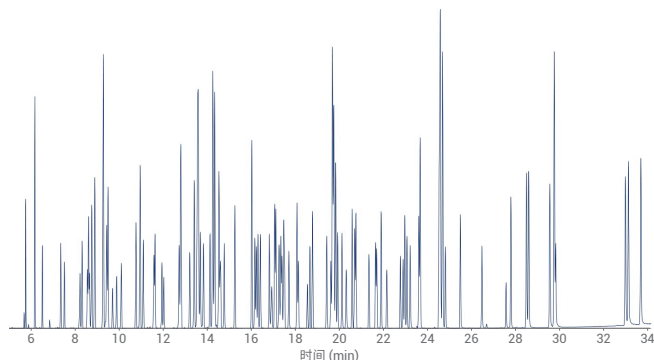


图 1. 展示目标化合物 (2.5 ng/μL)、内标和替代物 (分别为 5 ng/μL) 分离的总离子流色谱图 (TIC)。样品前处理部分指出，某些目标化合物的实际浓度水平不是 2.5 ng/μL

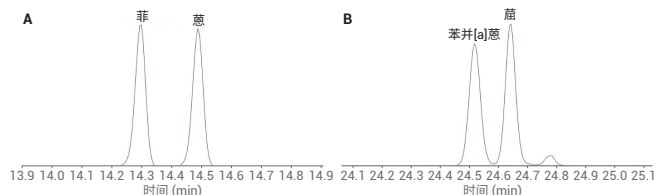


图 2. 展示菲和蒽 (A) 的基线分离 EIC 图以及苯并[a]蒽和蒽 (B) 近乎基线分离的 EIC 图

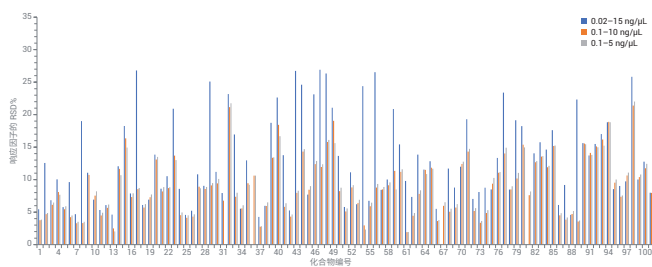


图 3. 目标分析物校准范围 0.02–15 ng/μL (蓝色)、0.1–10 ng/μL (橙色) 和 0.1–5 ng/μL (灰色) 的 %RSD 比较。化合物的鉴定信息如附录表 A1 所示

表 3. 目标分析物三个校准范围的统计特性

校准范围 (ng/μL)	RF 的平均 RSD	平均 RSD RF 的标准偏差	需线性回归的目标化合物
0.02–15	12.71	6.60	百菌清、硫丹 I、硫丹硫酸酯
0.1–10	8.97	4.46	
0.1–5	8.96	4.45	

## 扩展线性校准范围

将所有 102 种目标化合物的扩展校准范围 0.02–15 ng/μL 与校准范围 0.1–10 ng/μL (如 EPA 方法 525.2 中所述) 和 0.1–5 ng/μL (如 EPA 方法 525.3 中所述) 进行对比。校准曲线计算遵循环境实验室的方法要求和典型方法。首先，根据平均响应因子对所有 10 种校准浓度尝试校准。根据方法 525.2，只要达到合格标准，通过回归或用平均响应因子进行校准都是可接受的。

- 如果平均响应因子的标准偏差低于 30% RSD，则验证了每个浓度水平下的计算浓度均处于真实值的 30% 以内
- 如果计算浓度未通过 30% 阈值或 %RSD 标准，则降低校准浓度下限直至通过要求
- 如果通过删除浓度点无法获得最少五个校准点，则使用加权线性回归。线性回归或平均响应因子这两种校准方法都要求每个浓度水平下的计算浓度应在实际浓度 30% 的范围内

图 3 展示了所有目标化合物在三个校准范围内的平均响应因子 RSD 对比。百菌清、硫丹 I 和硫丹硫酸酯除外。这些化合物都只需要使用加权线性回归 (0.02–15 ng/μL)，见附录表 A2。当测试 EPA 525.2 和 525.3 校准范围时，所有化合物的平均响应因子 %RSD 低于 30%，计算浓度在所有目标化合物实际浓度 30% 的范围内。表 3 列出了目标化合物每个校准范围的 RSD 平均值和标准偏差。对于 RSD 从 0.1 ng/μL 到 5 ng/μL 和 10 ng/μL 的校准，RSD 的分布几乎相同，而扩展校准范围 (包括两个较低浓度和一个高于 EPA 525.2 范围的浓度) 显示平均 RSD 略有增加。同时还监测了替代化合物的响应因子，其在目标化合物的 10 种浓度水平下均保持为 5 ng/μL，详见附录表 A3。这些响应因子未包括在表 3 中所示的计算中。因更宽的动态范围和单四极杆 MSD 的低浓度，扩展范围的增加很容易理解。在所有三个校准范围的情形中，根据方法标准成功实现了校准 (所有目标化合物的响应因子列于附录表 A1 中)。

# 采用气质联用法一针进样、同时分析土壤中 147 种半挥发性有机物

## 试剂与样品

半挥发性有机物标准品：AccuGrand 64 组分半挥发性有机物混合标准溶液，1000 mg/L 购于 Accustandard；AccuGrand 39 组分半挥发性有机物混合标准溶液，1000 mg/L 购于 Accustandard；22 组分有机氯农药混合标准溶液，2000 mg/L 购于 Accustandard；3 组分 o,p'-滴滴涕混合标准溶液，1000 mg/L 购于 o2si；TCL 联苯胺混合标准溶液，2000 mg/L 购于 Supelco；硝基氯苯混合标准溶液，2000 mg/L 购于 o2si；以及部分由 Dr. Ehrenstorfer 提供的纯物质标准品 8270D 替代物：EPA8270 BNA 替代物标准溶液，4000 mg/L 购于 o2si 8270D 内标物：EPA8270 内标标准溶液，4000 mg/L 购于 o2si 二氯甲烷、丙酮、正己烷，农药残留级，购自 ACS (Anaqua Chemicals Supply) 公司。无水硫酸钠，购自国药集团化学试剂有限公司，在 450 °C 下焙烧 4 h，冷却后装瓶保存于干燥器中土壤样品：来自于用户实地采集土样，包括污染土样与一般土样

## 仪器和设备

Agilent Intuvo 9000 气相色谱/5977B 单四极杆气质联用系统，EI 离子源，配备 ALS7693 自动进样器。

其它设备：加压流体萃取仪；经典式玻璃索氏提取装置；超声萃取仪；翻转式振荡萃取器；Kuderna-Danish (K-D) 浓缩装置；8 孔恒温水浴锅，温度范围 37–100 °C ( $\pm 0.5$  °C)。

## 样品预处理

取空白石英砂，用正己烷反复清洗三次，作为空白样品用于空白加标实验。取实际污染土壤样品，自然风干、研磨后，过 100 目孔径尼龙筛，在 250 mL 玻璃瓶中密封保存，作为实际样品进行加标分析。

## 样品萃取

### 索氏萃取法<sup>[4]</sup>

准确称取 2.0 g 样品，放入滤纸筒中，如制备加标样品，此时加入标准品和替代物；将滤纸筒置于索氏提取器中，在 500 mL 圆底烧瓶中加入 150 mL 丙酮:二氯甲烷 (1:1, V/V) 混合溶剂，加热回流 18 h，每小时 4–6 次回流；萃取结束后进行过滤，待浓缩。

### 超声波萃取法<sup>[5]</sup>

准确称取 2.0 g 样品置于 100 mL 烧杯中，如制备加标样品，此时加入标准品和替代物；加入约 50 mL 丙酮:二氯甲烷 (1:1, V/V) 混合溶剂，超声波萃取 10 min；离心分离出萃取液，重复 3 次，将 3 次萃取液混合，待浓缩。

### 翻转振荡萃取法

准确称取 2.0 g 样品置于 250 mL 蓝盖瓶中，如制备加标样品，此时加入标准物质和替代物；加入 100 mL 丙酮:二氯甲烷 (1:1, V/V) 混合溶剂，盖上瓶盖，于翻转振荡器上振摇 2 h，转速 30 r/min  $\pm$  2 r/min；振摇结束后进行过滤，待浓缩。

### 加压流体萃取法<sup>[6]</sup>

准确称取 2.0 g 样品置于 10 mL 的萃取池内，如制备加标样品，此时加入标准物质和替代物；加入丙酮:二氯甲烷 (1:1, V/V) 混合溶剂进行萃取，加速溶剂萃取仪的温度设定为 100 °C，压力设定为 100 bar，预加热平衡 5 min，静态萃取时间为 5 min，溶剂淋洗 60% 萃取池体积，氮气吹扫时间 1 min，循环 2 次，待浓缩。

## 样品浓缩

所有萃取液转移至 K-D 浓缩装置进行浓缩，最终样品浓缩定容至 1 mL，待上机测试。KD 浓缩装置含 10 mL 接收管、500 mL 加液烧瓶、三球施耐德柱 (Snyder Column) 和两球施耐德柱，使用前需用二氯甲烷润洗一遍，弃去废液后使用。

最终样品浓缩定容至 1 mL 体积，准备上机分析。



## 色谱条件

色谱柱: Agilent HP-5MS UI 毛细管柱, 30 m × 250 μm × 0.25 μm

程序升温: 初始温度 45 °C, 保持 2 min, 以 20 °C/min 升温到 265 °C, 以 6 °C/min 升温到 285 °C, 再以 10 °C/min 升温到 320 °C, 保持 4 min

进样口温度: 300 °C

芯片式保护柱温度设置: 跟踪柱温

芯片式流路温度: 320 °C;

载气: 氦气: 1 mL/min

进样量: 1.0 μL, 不分流模式

## 质谱条件

离子源: EI, 70 eV

离子源温度: 280 °C

四极杆温度: 150 °C

采集模式: Scan 全扫描

扫描范围: 35–500 m/z

传输线温度: 280 °C

溶剂延迟: 3.9 min

## 结果与讨论

### 半挥发性有机物的分离

由于半挥发性有机污染物的沸点在 170–350 °C 的范围内, 因此分离这些物质需要使用具有高温耐受性的色谱柱。美国 EPA 8270D 方法推荐使用 HP-5MS 或类似色谱柱, 本方法采用具有超低柱流失性的 Agilent HP-5MS UI 色谱柱进行目标化合物分离。图 1 为 5 mg/L 混合溶液中 147 种半挥发性有机物标准品、6 种内标和 6 种替代物的总离子流色谱图。从图中可以看出, HP-5MS UI 色谱柱能够很好地分离大部分目标化合物, 且绝大部分化合物均获得了较高的丰度值。

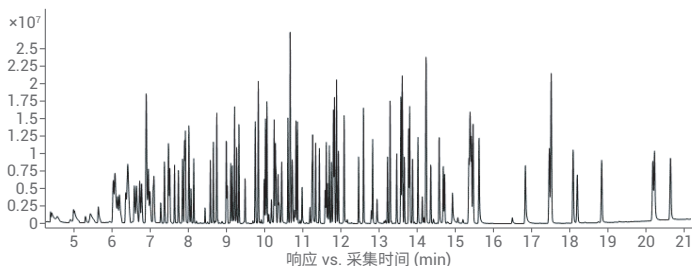


图 1. 5 mg/L 混合溶液中 147 种半挥发性有机物标准品及 6 种内标和 6 种替代物的总离子流色谱图

## 不同样品萃取方法的比较

对于筛查实验来说, 萃取方法和萃取效率至关重要。本文在土壤中半挥发性有机物的分析方法开发过程中, 对不同萃取方法所得到的回收率进行了比较。为尽可能减小土壤背景对实验的影响, 取自自然风干后的土壤样品, 过 100 目筛后, 经马弗炉 450 °C 烘烤 3 h, 冷却至室温后装瓶密封, 作为萃取方法实验空白土壤样品。将标准溶液用甲醇稀释至一定浓度后, 在萃取前加入空白土壤样品中, 充分混合, 经过上文所述 4 种萃取方法和浓缩方法处理后, 制备得到目标化合物浓度达到 2.5 μg/g 的待测样品。

采用 4 种萃取方法 (索氏萃取、超声波萃取、翻转振荡萃取和加压流体萃取) 所得到的空白土壤样品中目标化合物的加标回收率结果如表 1 所示。从中可以看出, 四种萃取方法的目标化合物加标回收率结果差异不大, 加压流体萃取方法所得到的回收率略高。综合考虑回收率、萃取样品所需的时间、仪器自动化程度及可操作性等因素, 本文选用加压流体萃取法作为最佳样品萃取方法。

表 1. 4 种萃取方法的空白土壤样品中目标化合物加标回收率结果的比较

化合物	索氏萃取回收率/%	超声波萃取回收率/%	翻转振荡萃取回收率/%	加压流体萃取回收率/%
2-氟苯酚	70.34–78.70	72.84–90.89	71.81–78.87	71.60–109.40
苯酚-d <sub>6</sub>	86.47–98.76	79.41–103.95	75.79–89.49	74.53–90.07
硝基苯-d <sub>5</sub>	70.05–94.52	83.67–111.06	73.20–90.70	85.18–96.85
2-氟联苯	71.56–92.10	89.04–112.67	73.20–93.69	85.10–93.96
2,4,6-三溴苯酚	70.79–90.80	73.18–94.87	75.09–86.80	71.20–80.40
三联苯-d <sub>14</sub>	90.80–103.20	88.68–115.48	85.33–100.33	85.17–94.44

### 仪器稳定性测试

由于本文涉及多种类型化合物的筛查分析, 考虑到目标化合物的多样性和复杂性, 在样品前处理过程中省去了样品净化步骤, 以避免净化过程造成某些化合物的损失或丢失, 从而引起筛查结果不准确。但是, 由于省去了净化步骤, 萃取浓缩后的样品基质极其复杂, 对仪器造成污染的可能性大大提高, 因此需要对仪器的稳定性和耐用性进行考察。

根据 EPA 方法 3500C<sup>[7]</sup>, 采用包含 11 种化合物的基质加标溶液作为考察仪器稳定性的质控样品。这 11 种化合物涵盖碱性、中性和酸性化合物, 在样品分析序列中, 每隔 20 个样品分析一次质控样品。碱性/中性化合物为萘、芘、2,4-二硝基甲苯、N-亚硝基二丙胺、1,2,4-三氯苯、1,4-二氯苯; 酸性化合物为苯酚、4-氯-3-甲基苯酚、2-氯酚、4-硝基苯酚、五氯酚。



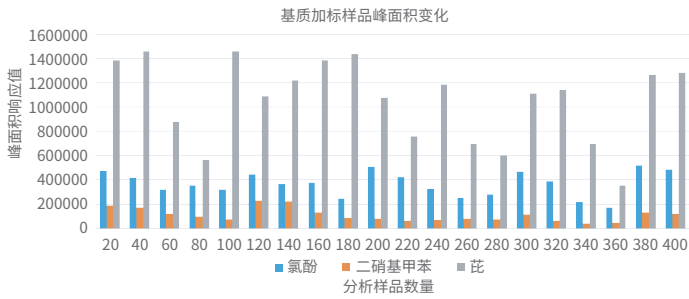


图 2. 2-氯酚、2,4-二硝基甲苯、芘质控样品化合物峰面积响应值变化注：图中纵坐标是峰面积响应值，横坐标是样品分析的个数

图 1 为 11 种质控化合物中出峰位置在前、中、后的三个化合物的峰面积响应值变化趋势。在总共 400 个样品连续分析的过程中，每 80 个样品左右，更换一次衬管，共更换了 5 根衬管、约 400 个样品左右，更换一个芯片式保护柱。从图 1 中峰面积变化趋势可以看出，每次更换衬管后质控化合物的响应值均能够回到或接近初始状态，表明仪器的灵敏度得到了恢复，也证明了色谱柱芯片式保护柱能够保护色谱柱及质谱检测器，大大减少了未经净化的土壤样品对色谱柱及质谱检测器的污染。衬管和芯片式保护柱的更换，需要根据实际样品的情况以及质控化合物的结果来判断。

## 校准曲线响应因子相对标准偏差及检出限

### 校准曲线响应因子相对标准偏差

分别配制浓度为 0.2、0.5、1.0、2.0、5.0、10.0 mg/L 的校准标准溶液，同时分别加入适量内标标准溶液，使其在混合标准溶液中的浓度达到 5.0 mg/L，浓度从低到高进行分析，并绘制校准曲线。针对某些响应较低的化合物，可以适当提高曲线最低点的浓度值范围。通过计算曲线的响应因子和各响应因子的相对标准偏差，得到化合物的相对响应因子的相对标准偏差 (RSD%) 均小于 30%，具体结果见表 2。方法开发需要进行系统设计，按照一定的流程逐步开展，如预实验、参数筛选、方法调整和优化、方法放缩与转移、实验验证等过程。根据方法开发与优化目的，也可以选择其中某个或某几个阶段。

$$\text{相对响应因子 (RRF}_i\text{) 计算: } \text{RRF}_i = \frac{A_s \rho_{is}}{A_{is} \rho_s}$$

注：RRF<sub>i</sub> — 相对响应因子 ρ<sub>s</sub> — 目标物浓度

A<sub>s</sub> — 目标物峰面积 ρ<sub>is</sub> — 内标物浓度 A<sub>is</sub> — 内标物峰面积

## 方法检出限

连续分析 7 个低浓度的实验室空白平行加标样品，加标浓度为 0.1 mg/kg，计算其检测浓度的标准偏差 (S)，再根据下列公式计算得出方法检出限，所得结果如表 2 所示。根据表 2 中数据所示，该方法完全能够满足 EPA8270D 对土壤中多种半挥发性有机物同时筛查分析的方法检出限要求，同时也能够满足标准 HJ 834-2017 的要求。

$$\text{MDL} = S t_{(n-1, 0.99)}$$

其中，t<sub>(n-1, 0.99)</sub> 为置信度为 99%、自由度为 n-1 时的 t 值；

n 为平行分析的样品数。

## 加标回收率和精密度

分别称取 7 份同样的空白样品各 20.0 g，加入替代物溶液和混合标准溶液，使其加标浓度为 0.1 mg/kg，按照实验部分进行样品前处理和仪器分析，计算得到各化合物的测定浓度相对标准偏差和加标平均回收率，结果见表 2。从表中可以看出，除了酚类、硝基苯类、苯胺类有个别化合物的测定浓度相对标准偏差和加标平均回收率偏大一些，但仍能满足筛查定量的要求，其余绝大多数化合物的测定浓度相对标准偏差 ≤ 20%，加标平均回收率在 60%–130% 之间。根据实验所得的结果，说明了从样品的前处理方式，到仪器系统的应用分析，整个过程可以较好地实现土壤中多种半挥发性有机物同时筛查的目的。

表 2. 校准曲线 RF 值相对标准偏差、样品加标平均回收率、方法检出限

化合物	RT /min	RSD(RF) /%	测定平均浓度 /mg/kg	RSD /%	平均加标回收率 /%	MDL /mg/kg
N-亚硝基二甲胺	4.164	9.7	0.098	12.9	98.1	0.040
N-亚硝基甲基乙胺	4.265	13.7	0.110	7.4	110.4	0.023
2-甲基吡啶	4.351	10.1	0.062	17.1	62.1	0.053
甲磺酸甲酯	4.513	6.6	0.064	32.5	64.4	0.100
2-氟苯酚	4.611	3.8	0.139	5.4	139.0	0.017
N-亚硝基二乙胺	5.292	9.7	0.110	6.7	110.0	0.021
甲磺酸乙酯	5.635	7.5	0.081	22.2	81.2	0.068
苯酚-d6	6.020	7.3	0.124	4.1	124.3	0.013
苯酚	6.030	7.7	0.088	11.9	88.2	0.037
五氯乙烷	6.063	3.1	0.081	10.8	80.9	0.033
苯胺	6.073	17.3	0.060	26.4	60.4	0.081
双(2-氯乙基)醚	6.143	9.6	0.077	8.4	77.4	0.026
2-氯酚	6.186	2.2	0.085	8.7	84.7	0.027
1,3-二氯苯	6.351	4.2	0.087	18.4	87.1	0.057
1,4-二氯苯	6.351	3.9	0.082	16.3	81.5	0.050
1,2-二氯苯	6.410	2.7	0.086	10.7	86.4	0.033
2-甲基苯酚	6.581	10.9	0.077	19.3	77.1	0.059
苯甲醇	6.720	18.9	0.125	26.3	125.3	0.081
二氯异丙基醚	6.769	13.5	0.090	5.0	90.1	0.015
3-甲基苯酚和 4-甲基苯酚	6.886	5.4	0.145	11.6	145.4	0.036
N-亚硝基吡咯烷	6.892	11.8	0.153	4.8	153.2	0.015
1,3,5-三甲苯	6.894	15.2	0.066	8.1	66.1	0.025
苯乙酮	6.897	3.2	0.096	6.0	95.5	0.018
1,2,4-三甲苯	6.897	11.3	0.103	4.7	102.7	0.015
N-亚硝基吗啉	6.908	10.6	0.109	13.7	108.5	0.042
N-亚硝基二正丙胺	6.929	19.3	0.110	5.4	110.4	0.017
邻甲苯胺	6.945	17.9	0.060	20.9	59.7	0.064
六氯乙烷	6.988	6.9	0.082	14.0	81.6	0.043
硝基苯-d5	7.073	7.4	0.136	2.1	135.8	0.007
硝基苯	7.095	5.0	0.096	6.6	96.0	0.020
N-亚硝基哌啶	7.271	9.5	0.105	5.4	105.3	0.017
异佛尔酮	7.368	4.9	0.093	6.7	93.2	0.021
2-硝基苯酚	7.469	21.1	0.080	6.0	80.3	0.019
1,3,5-三氯苯	7.475	8.5	0.085	7.0	85.1	0.021
2,4-二甲苯酚	7.507	11.1	0.057	24.0	56.9	0.074
双(2-氯乙氧基)甲烷	7.635	3.8	0.090	7.4	90.0	0.023
2,4-二氯苯酚	7.737	12.2	0.080	9.6	80.4	0.030
1,2,4-三氯苯	7.844	6.8	0.088	6.4	87.7	0.020
萘	7.919	8.1	0.094	6.5	93.7	0.020
4-氯苯胺	8.009	15.7	0.064	29.0	64.4	0.089
2,6-二氯苯酚	8.015	0.6	0.070	16.8	70.1	0.052
六氯丙烯	8.063	12.5	0.068	11.2	68.1	0.035
敌敌畏	8.074	16.9	0.060	14.5	59.6	0.045
六氯丁二烯	8.138	6.4	0.089	6.9	88.9	0.021
N-亚硝基二丁胺	8.432	13.0	0.114	11.3	113.8	0.035
4-氯-3-甲基苯酚	8.571	3.8	0.090	8.3	90.2	0.026
1-氯-3-硝基苯	8.571	6.8	0.065	26.6	65.1	0.082
1-氯-4-硝基苯	8.651	16.0	0.145	32.1	145.2	0.099
顺式异黄樟素	8.651	3.7	0.091	7.1	90.8	0.022

化合物	RT /min	RSD(RF) /%	测定平均浓度 /mg/kg	RSD /%	平均加标回收率 /%	MDL /mg/kg
2-甲基萘	8.742	4.2	0.090	6.2	90.1	0.019
1-氯-2-硝基苯	8.742	3.6	0.155	32.1	155.2	0.099
1,2,4,5-四氯苯	8.994	4.7	0.089	6.6	89.2	0.020
反式异黄樟素	8.999	13.6	0.081	35.2	80.8	0.109
六氯代环戊二烯	9.020	15.0	0.051	22.6	50.9	0.070
2,4,6-三氯苯酚	9.111	13.4	0.083	11.1	82.6	0.034
2,4,5-三氯苯酚	9.149	4.2	0.081	9.1	81.0	0.028
2-氟联苯	9.208	2.8	0.141	2.0	141.1	0.006
黄樟素	9.266	3.6	0.082	12.2	82.4	0.038
2-氯萘	9.325	7.2	0.093	5.6	92.9	0.017
久效磷	9.325	8.5	0.064	34.8	64.4	0.107
2-硝基苯胺	9.486	11.0	0.092	7.9	92.1	0.024
邻苯二甲酸二甲酯	9.748	5.1	0.143	7.6	142.6	0.023
1,3-二硝基苯	9.759	20.6	0.129	10.7	128.9	0.033
2,6-二硝基甲苯	9.828	8.6	0.091	6.3	90.5	0.020
萘烯	9.833	8.4	0.100	7.4	99.9	0.023
3-硝基苯胺	9.983	11.3	0.096	22.6	96.3	0.070
二氢萘	10.058	7.3	0.094	6.6	94.1	0.020
2,4-二硝基苯酚	10.106	7.7	0.068	19.7	67.9	0.061
4-硝基苯酚	10.176	22.6	0.078	8.4	77.7	0.026
二苯并咪喃	10.245	3.2	0.090	6.6	90.4	0.020
五氯苯	10.277	4.2	0.089	6.0	89.1	0.019
2,4-二硝基甲苯	10.293	13.6	0.088	7.7	87.6	0.024
1-萘胺	10.347	17.5	0.046	25.4	46.2	0.078
2-萘胺	10.438	19.8	0.044	28.6	43.9	0.088
2,3,4,6-四氯苯酚	10.448	13.5	0.084	10.5	83.5	0.032
邻苯二甲酸二乙酯	10.609	9.3	0.093	6.7	93.1	0.021
芴	10.662	8.8	0.096	6.9	95.9	0.021
4-氯苯基苯基醚	10.668	11.1	0.092	6.9	91.6	0.021
5-硝基邻甲苯胺	10.716	23.9	0.095	16.5	94.7	0.051
4-硝基苯胺	10.727	8.4	0.100	14.5	100.4	0.045
4,6-二硝基-2-甲基苯酚	10.780	20.8	0.060	9.1	59.9	0.028
二苯胺和亚硝基二苯胺	10.818	13.2	0.105	30.6	105.1	0.094
偶氮苯	10.860	2.1	0.107	7.4	106.6	0.023
2,4,6-三溴酚	10.978	9.6	0.138	9.2	137.8	0.028
1,3,5-三硝基甲苯	11.187	15.8	0.076	6.8	76.0	0.021
非那西丁	11.240	12.6	0.106	11.5	106.1	0.035
4-溴苯基苯基醚	11.256	5.4	0.091	7.4	91.3	0.023
乐果	11.256	12.5	0.057	14.1	56.6	0.043
戊炔草胺	11.256	7.2	0.105	17.7	104.8	0.055
α-BHC	11.336	6.6	0.091	7.5	90.5	0.023
六氯苯	11.433	8.9	0.092	7.2	91.6	0.022
4-氨基联苯	11.582	11.2	0.053	26.7	52.7	0.082
拿草特	11.608	12.2	0.150	22.3	150.0	0.069
β-BHC	11.609	7.5	0.092	7.6	91.6	0.023
五氯酚	11.647	18.9	0.082	12.8	81.7	0.039
西玛津	11.647	12.7	0.100	10.3	99.7	0.032
γ-BHC	11.695	9.3	0.091	5.9	90.9	0.018
五氯硝基苯	11.749	5.9	0.096	7.2	95.9	0.022

化合物	RT /min	RSD(RF) /%	测定平均浓度 /mg/kg	RSD /%	平均加标回收率 /%	MDL /mg/kg
菲	11.828	6.0	0.097	7.4	96.6	0.023
蒽	11.882	8.2	0.095	7.3	95.0	0.023
δ-BHC	11.930	9.2	0.096	5.9	95.5	0.018
唑啉	12.080	12.2	0.123	6.4	123.1	0.020
七氯	12.460	13.1	0.079	7.1	79.1	0.022
邻苯二甲酸二正丁酯	12.588	8.2	0.140	10.0	139.9	0.031
4-硝基氮氧化喹啉	12.797	16.4	0.069	10.3	69.0	0.032
艾氏剂	12.829	6.9	0.097	7.5	97.1	0.023
盐酸美沙吡林	12.941	16.0	0.056	15.4	55.5	0.047
环氧七氯	13.219	2.5	0.095	7.8	95.1	0.024
荧蒽	13.283	9.7	0.105	7.2	105.2	0.022
反式氯丹	13.461	0.7	0.092	6.5	91.6	0.020
芘	13.572	8.8	0.099	6.4	99.2	0.020
硫丹 1	13.604	6.5	0.093	9.6	93.2	0.030
顺式氯丹	13.615	5.0	0.092	5.6	92.4	0.017
顺式九氯	13.663	6.4	0.096	5.9	96.1	0.018
4,4'-DDE	13.770	4.4	0.091	7.0	90.8	0.022
o,p'-DDE	13.771	3.6	0.089	8.4	88.6	0.026
三联苯-d14	13.802	5.1	0.141	1.7	140.6	0.005
狄氏剂	13.872	2.7	0.099	5.9	99.1	0.018
联苯胺	13.872	11.8	0.130	6.6	129.6	0.020
二甲基氨基偶氮苯	14.020	16.2	0.063	34.3	63.4	0.106
异狄氏剂	14.128	7.8	0.085	5.5	84.9	0.017
硫丹 2	14.225	9.7	0.090	7.0	89.9	0.022
o,p'-DDD	14.234	4.1	0.064	8.6	64.0	0.027
4,4'-DDD	14.235	2.8	0.105	6.3	104.5	0.019
o,p'-DDT	14.237	8.6	0.071	9.5	70.8	0.029
反式九氯	14.353	7.8	0.096	6.1	96.4	0.019
邻苯二甲酸丁苄酯	14.572	14.6	0.101	5.8	100.6	0.018
4,4'-DDT	14.679	8.6	0.061	5.4	61.3	0.017
硫酸硫丹	14.717	10.9	0.102	5.3	102.1	0.016
N-2-乙酰氨基苄	14.925	15.7	0.096	6.6	96.4	0.020
异狄氏醛	15.353	12.3	0.095	5.9	94.8	0.018
3,3-二氯联苯胺	15.353	10.3	0.094	6.1	93.5	0.019
异狄氏剂酮	15.354	8.4	0.093	6.3	93.4	0.019
甲氧滴滴涕	15.375	11.6	0.063	7.3	63.2	0.022
苯并[a]蒽	15.466	1.8	0.095	6.5	94.6	0.020
蒎	15.466	7.5	0.095	6.3	94.9	0.019
双(2-乙基己基)邻苯二甲酸酯	15.621	7.6	0.149	16.7	148.9	0.052
灭蚁灵	15.990	8.3	0.125	8.3	125.2	0.026
邻苯二甲酸二正辛酯	16.835	12.3	0.104	5.9	104.1	0.018
苯并[b]荧蒽	17.466	8.5	0.101	6.1	101.3	0.019
苯并[k]荧蒽	17.514	10.6	0.100	5.8	99.6	0.018
7,12-二甲基苯并(a)蒽	17.514	12.7	0.079	10.5	78.9	0.032
苯并[a]芘	18.086	11.4	0.096	6.6	96.1	0.020
3-甲基胆蒽	18.835	14.1	0.059	24.1	59.4	0.074
茚并[1,2,3-cd]芘	20.178	9.6	0.092	5.8	91.9	0.018
苯并[g,h,i]芘	20.178	7.4	0.094	5.9	94.4	0.018
二苯并[a,h]蒽	20.226	3.8	0.098	5.4	97.7	0.017

# 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

## 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  $\epsilon$ -六氯环己烷 ( $\epsilon$ -HCH 的环己烷溶液, 10 ng/ $\mu$ L, 纯度 99.9%) 的 SCCPs 混合物 (100 ng/ $\mu$ L, C<sub>10</sub>-C<sub>13</sub>, 氯化度为 51%、55.5% 和 63%, 纯度 100%) 与 MCCPs 混合物 (100 ng/ $\mu$ L, C<sub>14</sub>-C<sub>17</sub>, 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 (<sup>13</sup>C<sub>10</sub>, 100 ng/ $\mu$ L, 溶于环己烷, 纯度  $\geq$  98%) 和 1,5,5,6,6,10-六氯癸烷 (未标记, 100 ng/ $\mu$ L, 溶于环己烷, 纯度  $\geq$  98%) 购自 Cambridge Isotope Laboratories (Andover, USA)。

## 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<sup>[11,12]</sup>, 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 <sup>13</sup>C<sub>10</sub>-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  $\mu$ L) 中。加入  $\epsilon$ -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。

## 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 $\times$ 0.25 mm, 0.25 $\mu$ m (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 $\mu$ L
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 <i>m/z</i>
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

## 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, 观察到的提取离子色谱 (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<sup>[6]</sup>。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。

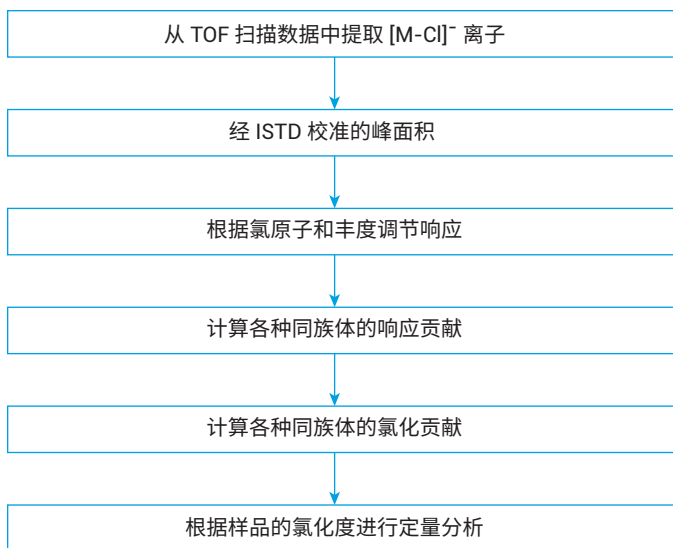


图 1. 用于 CPs 的定量方法工作流程。有关该定量方法的详细信息，请参见参考文献 10

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

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] <sup>-</sup>	丰度	m/z [M-Cl] <sup>-</sup>	丰度			
SCCPs							
C <sub>10</sub> H <sub>17</sub> Cl <sub>5</sub>	279.0006	37.60%	277.0009	29.40%	314.5	9.5–14	11.8
C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> Cl <sub>6</sub>	312.9671	35.60%	314.9641	22.70%	349	11–13.5	7.5
C <sub>10</sub> H <sub>15</sub> Cl <sub>7</sub>	346.9281	32.30%	348.9251	25.90%	383.5	11.5–14	5.2
C <sub>10</sub> H <sub>14</sub> Cl <sub>8</sub>	380.8891	28.60%	382.8862	27.50%	418	12.5–14.5	4.78
C <sub>10</sub> H <sub>14</sub> Cl <sub>9</sub>	416.8472	27.80%	414.8501	24.80%	452.5	12.5–14.5	3.2
C <sub>10</sub> H <sub>12</sub> Cl <sub>10</sub>	450.8082	27.10%	448.8112	21.20%	487	11.5–16	1.1
C <sub>11</sub> H <sub>19</sub> Cl <sub>5</sub>	293.0217	37.20%	291.0246	29.10%	328.5	10–14	9.05
C <sub>11</sub> H <sub>18</sub> Cl <sub>6</sub>	326.9437	35.20%	328.9798	22.50%	363	11–14	6.5
C <sub>11</sub> H <sub>17</sub> Cl <sub>7</sub>	360.9437	32.00%	362.9408	25.60%	397.5	12–14.5	1.6
C <sub>11</sub> H <sub>16</sub> Cl <sub>8</sub>	394.9048	28.30%	396.9018	27.20%	432	12–14.5	0.75
C <sub>11</sub> H <sub>15</sub> Cl <sub>9</sub>	430.8628	27.50%	428.8658	24.50%	466.5	12.5–14.5	0.75
C <sub>11</sub> H <sub>14</sub> Cl <sub>10</sub>	464.8239	26.70%	462.8268	20.90%	501	13.5–15.5	0.75
C <sub>12</sub> H <sub>20</sub> Cl <sub>5</sub>	307.0373	36.80%	305.0403	28.70%	342.5	11–14	5.55
C <sub>12</sub> H <sub>19</sub> Cl <sub>6</sub>	340.9984	34.80%	342.9954	22.30%	377	11.5–14	5.15
C <sub>12</sub> H <sub>18</sub> Cl <sub>7</sub>	374.9594	31.70%	376.9564	25.30%	411.5	12.4–14.6	1.45
C <sub>12</sub> H <sub>17</sub> Cl <sub>8</sub>	408.9204	28.00%	410.9175	26.90%	446	12.5–15	1.2
C <sub>12</sub> H <sub>16</sub> Cl <sub>9</sub>	444.8785	27.10%	442.8814	24.20%	480.5	13–15	1
C <sub>12</sub> H <sub>15</sub> Cl <sub>10</sub>	478.8395	26.40%	476.8425	20.70%	515	13.5–16	1
C <sub>13</sub> H <sub>22</sub> Cl <sub>5</sub>	321.053	36.30%	319.0059	28.40%	356.5	11.5–14.5	10
C <sub>13</sub> H <sub>21</sub> Cl <sub>6</sub>	355.0123	34.40%	357.0111	22.00%	391	12.2–15	8.7
C <sub>13</sub> H <sub>20</sub> Cl <sub>7</sub>	388.975	31.30%	390.9721	25.00%	425.5	12.5–14.5	3.5
C <sub>13</sub> H <sub>19</sub> Cl <sub>8</sub>	422.9361	27.70%	424.9331	26.60%	460	13–15.5	2
C <sub>13</sub> H <sub>18</sub> Cl <sub>9</sub>	458.8941	26.80%	456.8971	24.00%	494.5	12.5–17	2
C <sub>13</sub> H <sub>17</sub> Cl <sub>10</sub>	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]<sup>-</sup> 离子的精确质量, 平均分子量、保留时间和检出限 (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] <sup>-</sup>	丰度	m/z [M-Cl] <sup>-</sup>	丰度			
<b>MCCPs</b>							
C <sub>14</sub> H <sub>25</sub> Cl <sub>5</sub>	335.0686	37.60%	333.0716	29.40%	370.5	12.2–14.2	9.3
C <sub>14</sub> H <sub>24</sub> Cl <sub>6</sub>	369.0697	35.60%	371.0267	22.70%	405	12.4–14.6	2.6
C <sub>14</sub> H <sub>23</sub> Cl <sub>7</sub>	402.9907	32.30%	404.9877	25.90%	439.5	12.8–15.2	5.5
C <sub>14</sub> H <sub>22</sub> Cl <sub>8</sub>	436.9517	28.60%	438.9488	27.50%	474	13.6–15.8	7.5
C <sub>14</sub> H <sub>21</sub> Cl <sub>9</sub>	472.9098	27.80%	470.9127	24.80%	508.5	14–16.8	3.5
C <sub>14</sub> H <sub>20</sub> Cl <sub>10</sub>	506.8708	27.10%	504.8738	21.20%	543	15–18	3.1
C <sub>15</sub> H <sub>27</sub> Cl <sub>5</sub>	349.0843	37.20%	347.0872	29.10%	384.5	12.2–14.4	7.7
C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> Cl <sub>6</sub>	383.0453	35.20%	385.0424	22.50%	419	12.5–15.5	10
C <sub>15</sub> H <sub>25</sub> Cl <sub>7</sub>	417.0063	32.00%	419.0034	25.60%	453.5	13.8–15.2	38
C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> Cl <sub>8</sub>	450.9674	28.30%	452.9644	27.20%	488	13.5–16.8	5.6
C <sub>15</sub> H <sub>23</sub> Cl <sub>9</sub>	486.9254	27.50%	484.9284	24.50%	522.5	14.6–18	4.6
C <sub>15</sub> H <sub>22</sub> Cl <sub>10</sub>	520.8865	26.70%	518.8894	20.90%	557	15.5–19.5	2.1
C <sub>16</sub> H <sub>29</sub> Cl <sub>5</sub>	363.0999	36.80%	361.1029	28.70%	398.5	12.5–15.5	9.6
C <sub>16</sub> H <sub>28</sub> Cl <sub>6</sub>	397.061	34.80%	399.058	22.30%	433	13.5–15.5	11.7
C <sub>16</sub> H <sub>27</sub> Cl <sub>7</sub>	431.022	31.70%	433.019	25.30%	467.5	13.8–15.8	7.9
C <sub>16</sub> H <sub>26</sub> Cl <sub>8</sub>	464.983	28.00%	466.9801	26.90%	502	14.4–17.4	2.3
C <sub>16</sub> H <sub>25</sub> Cl <sub>9</sub>	500.9411	27.10%	502.9381	24.20%	536.5	15.5–19.5	1.6
C <sub>16</sub> H <sub>24</sub> Cl <sub>10</sub>	534.9021	26.40%	532.9051	20.70%	571	16.5–21	0.9
C <sub>17</sub> H <sub>31</sub> Cl <sub>5</sub>	377.1156	36.30%	375.1185	28.40%	412.5	12.5–15	8.6
C <sub>17</sub> H <sub>30</sub> Cl <sub>6</sub>	411.0766	34.40%	413.0737	22.00%	447	13.4–15.2	9.3
C <sub>17</sub> H <sub>29</sub> Cl <sub>7</sub>	445.0376	31.30%	447.0347	25.00%	481.5	13–17.5	2.7
C <sub>17</sub> H <sub>28</sub> Cl <sub>8</sub>	478.9987	27.70%	480.9957	26.60%	516	14.5–19	1
C <sub>17</sub> H <sub>27</sub> Cl <sub>9</sub>	514.9567	26.80%	512.9597	24.00%	550.5	16.5–20.5	1.2
C <sub>17</sub> H <sub>26</sub> Cl <sub>10</sub>	548.9178	26.10%	546.9207	20.40%	585	18–23	1.3

## 检出限 (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, MCCPs 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 MCCPs 和 57% Cl MCCPs 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 MCCPs 的线性范围均可达到三个数量级, 高于 NCI-LRMS 方法的线性范围<sup>[6]</sup>。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。

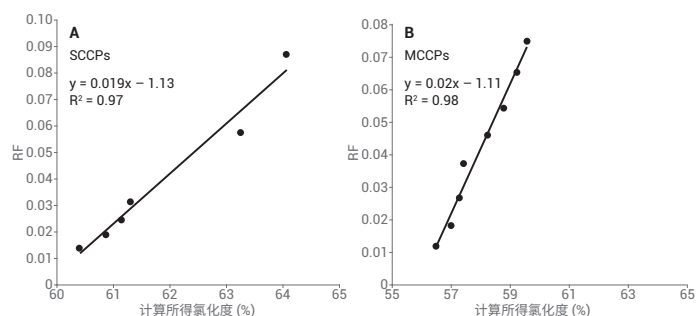


图 2. MCCPs 和 SCCPs 的总响应因子 (RF: 内标调节响应与 CPs 含量之比) 与计算出的所得氯化度 (%) 之间的线性关系。A) 10 ng/μL SCCPs 的标准曲线 (通过混合 51.5% Cl、55.5% Cl 和 63% Cl SCCPs 标准品获得不同的氯化度)。B) 10 ng/μL MCCPs 的标准曲线 (通过混合 42% Cl、52% Cl 和 57% Cl MCCPs 标准品获得不同的氯化度)

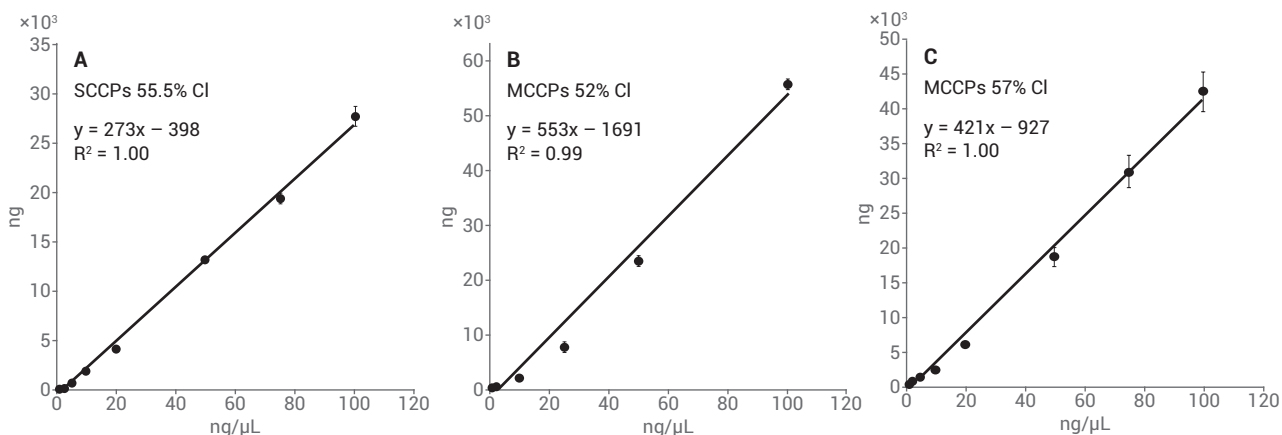


图 3. A) 55.5% 氯代 SCCPs 混合物 (0.25–100 ng/μL) 的线性。B) 52% 氯代 MCCPs 混合物 (0.25–100 ng/μL) 的线性。C) 57% 氯代 MCCPs 混合物 (0.25–100 ng/μL) 的线性

### 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。

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<sup>[5,11]</sup>。因此, 本研究使用的 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 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 <sup>a</sup>	二元混标	参考浓度 (ng/μL)	计算浓度 (±误差) (ng/μL)	准确度 <sup>a</sup>
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%

<sup>a</sup> 准确度定义为计算出的 CPs 浓度和 CPs 参考浓度的百分比

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 <sup>a</sup> (ppm <sup>b</sup> )
417	C <sub>10</sub> Cl <sub>9</sub>	416.8472	C <sub>15</sub> Cl <sub>7</sub>	417.0063	382
451	C <sub>10</sub> Cl <sub>10</sub>	450.8082	C <sub>15</sub> Cl <sub>8</sub>	450.9674	353
431	C <sub>11</sub> Cl <sub>9</sub>	430.8628	C <sub>16</sub> Cl <sub>7</sub>	431.022	369
465	C <sub>11</sub> Cl <sub>10</sub>	464.8239	C <sub>16</sub> Cl <sub>8</sub>	464.983	342
445	C <sub>12</sub> Cl <sub>9</sub>	444.8785	C <sub>17</sub> Cl <sub>7</sub>	445.0376	358
479	C <sub>12</sub> Cl <sub>10</sub>	478.8395	C <sub>17</sub> Cl <sub>8</sub>	478.9987	333

<sup>a</sup> 两个离子质量的差值

<sup>b</sup> 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<sup>[14]</sup>。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:  $\pm 0.5$  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 C<sub>10</sub>Cl<sub>10</sub> 和 C<sub>15</sub>Cl<sub>8</sub> 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<sup>[13]</sup> (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<sup>[11,12]</sup>。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/m<sup>3</sup>。最后, 对于工业品, CP-52 产品 200  $\mu$ L 中 10 (ng/ $\mu$ L) 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。

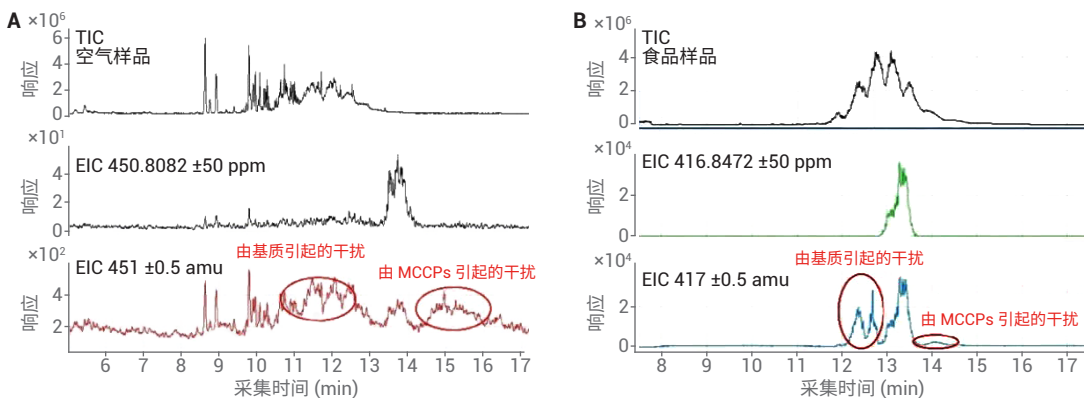


图 4. 通过精确质量提取消除样品中的基质效应, 如 EIC 比较结果所示。A) 在不同的质量提取窗口 (50 ppm 和 0.5 amu) 下, 空气样品的总离子流色谱图 (TIC) 及相应的 EIC 提取结果 (C<sub>10</sub>Cl<sub>10</sub>); B) 在不同的质量提取窗口 (50 ppm 和 0.5 amu) 下, 食品样品的 TIC 及相应的 EIC 提取结果 (C<sub>10</sub>Cl<sub>9</sub>)

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。

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 的实验室间比较结果。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/m<sup>3</sup>。在食品样品中, MCCPs 含量在 603 ng/g–7478 ng/g 之间。

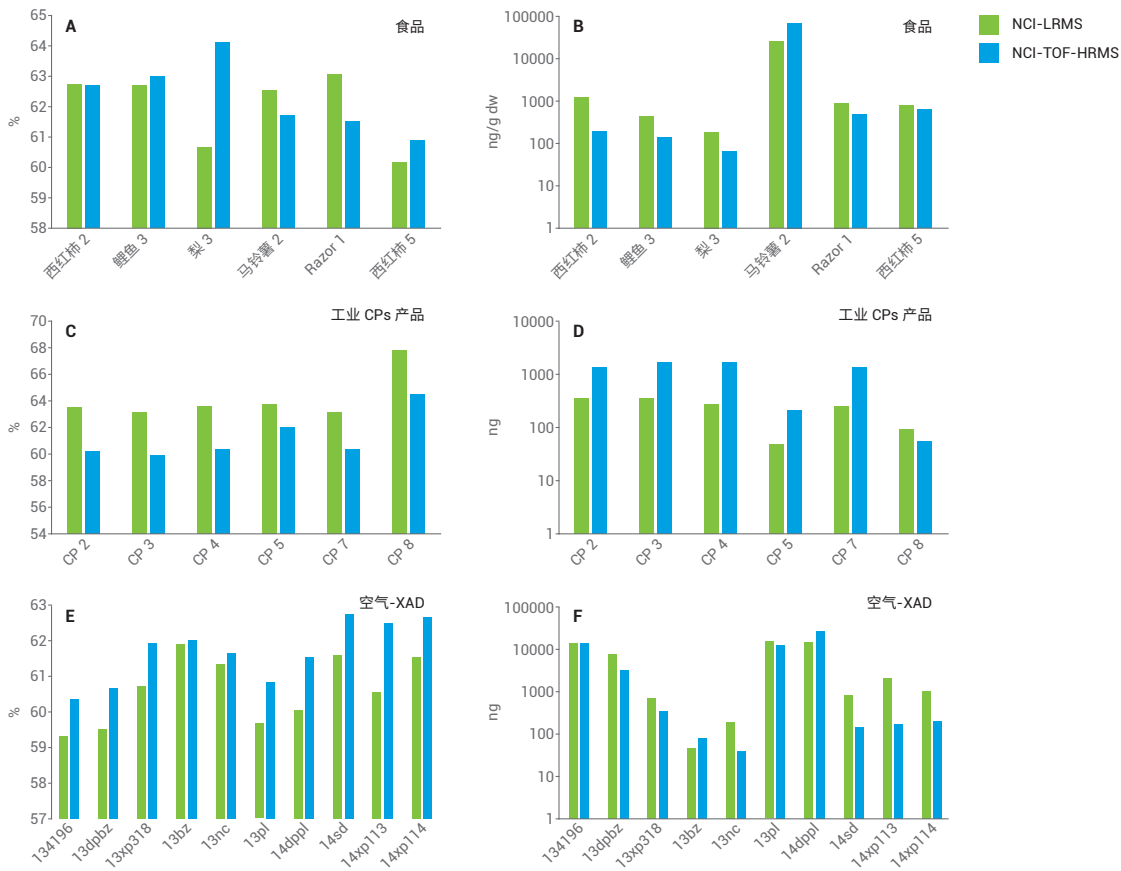


图 5. 通过 NCI-TOF-HRMS 方法 (蓝色条) 和 NCI-LRMS 方法 (绿色条) 获得的氯化度和 SCCPs 含量计算值的比较: (A) 食品样品中氯化度计算值的比较, (B) 食品样品中的含量比较, (C) 工业 CPs 产品中氯化度计算值的比较, (D) 工业 CPs 产品中的含量比较, (E) 基于 XAD 的空气样品中氯化度计算值的比较, 以及 (F) 基于 XAD 的空气样品中的含量比较

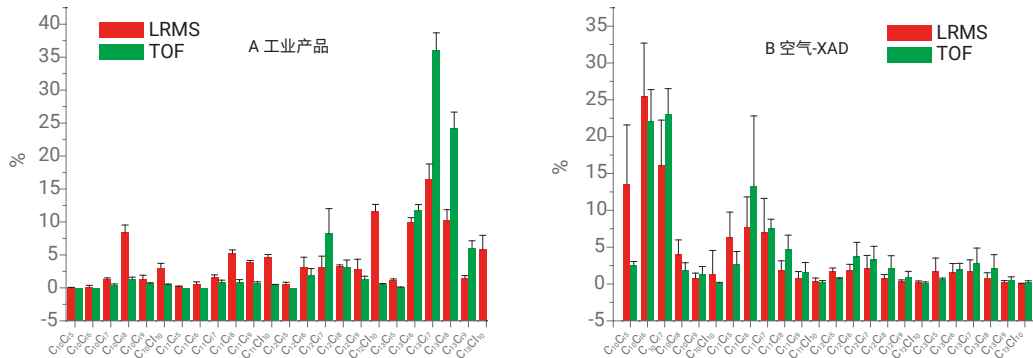


图 6. 使用 NCI-TOF-HRMS 方法 (绿色条) 和 NCI-LRMS 方法 (红色条) 获得的 SCCPs 单个同系物含量的比较: (A) 工业产品中 SCCPs 的同系物组分布, 以及 (B) 基于 XAD 的空气样品中 SCCPs 的同系物组分布

对于工业产品, 六个 CP-52 产品 (CP2、CP3、CP4、CP5、CP7 和 CP8) 中 10 ng/ $\mu$ L 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, 应在更宽的氯化度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<sup>[11,12]</sup>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。

# 微塑料分析相关方案



## 8700 LDIR 激光红外成像系统快速简单地表征地表水和处理后污水中的微塑料

### 试剂与化学品

光谱级乙醇、十二烷基硫酸钠及其他化学品，80  $\mu\text{m}$  的聚苯乙烯 (PS) 微球标准品，用于加标回收率分析的去离子 (DI) 水。

### 水样采集和实验室前处理

地表水原液取自新加坡集水区，处理后污水取自新加坡废水处理厂，均用大桶收集，共 10 L。然后对 1 L 水样进行二次取样，用于微塑料分析。使用前，将所有玻璃器皿在超声水浴中用 0.3 g/L 十二烷基硫酸钠溶液进行处理，再用超纯 (18 M $\Omega$ ) 水冲洗。

颗粒收集流程如图 1 所示。采用真空过滤设备进行过滤。根据样品类型复杂程度的不同，每次过滤操作耗时也不同。在过滤完地表水和处理后污水这类复杂样品后，用 50 mL 去离子水冲洗滤膜，冲洗出捕获到的颗粒。滤盘在使用前后均用去离子水冲洗，避免各次过滤操作之间发生交叉污染。

将不锈钢滤膜置于烧杯中，经超声处理，使收集的颗粒定量转移到 2 mL 乙醇中。将烧杯置于 70  $^{\circ}\text{C}$  的加热板上，所得颗粒-乙醇悬浊液蒸发至干，然后将其重悬于 200  $\mu\text{L}$  乙醇中。用移液枪将最终得到的重悬后乙醇层转移至两块红外反射玻片 (7.5  $\times$  2.5 cm) 上。移液枪头经过手动切割扩大孔径，以容纳最大尺寸为 1000  $\mu\text{m}$  的颗粒。所有微塑料颗粒的前处理步骤都在层流通风橱中进行，尽量避免受到空气污染。在用 LDIR 分析之前，将最终得到的玻片存放在密闭的玻璃培养皿中。

### 加标去离子水样品作为阳性对照

样品前处理流程中会有颗粒损失，这为分析 20–1000  $\mu\text{m}$  的大范围颗粒带来了挑战。为了验证样品处理效率，定量颗粒损失，在实验设计中加入了使用阳性对照的回收率分析。在 1 L 去离子水中加入约 100 个 80  $\mu\text{m}$  球状聚苯乙烯颗粒，配制六份技术重复样品，作为阳性对照。计算各阳性对照中测得的 80  $\mu\text{m}$  聚苯乙烯微球的百分比，以其平均值作为回收率 (%)。计算六个技术重复样品回收率的相对标准偏差 (RSD)，评估该流程的重现性。

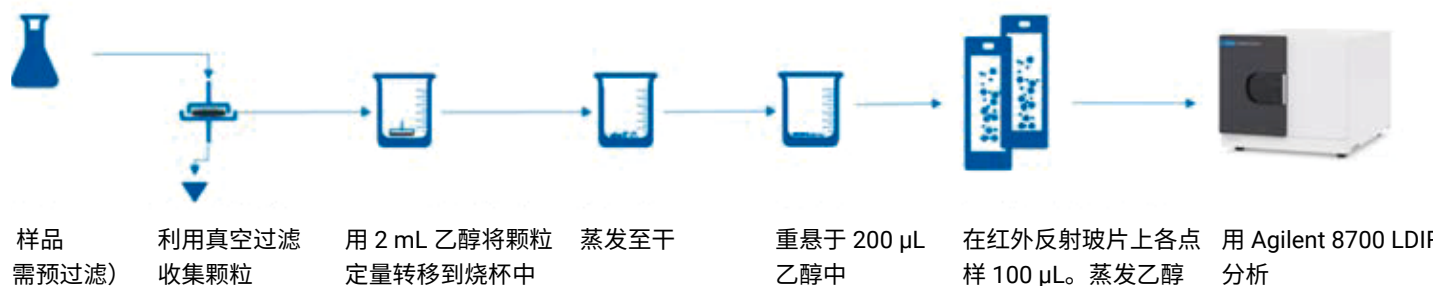


图 1. 微塑料颗粒收集流程



## 从水源中收集颗粒

按照图 1 所示的工作流程收集地表水样品和处理后污水样品中的微塑料颗粒。在收集颗粒之前，用 1000 μm 金属筛网预筛地表水样品和处理后污水样品，除去较大的颗粒。在样品前处理工作流程中，每种水源均配制两份，最后比较所得的平均颗粒信息。

与阳性对照样品相类似，向每份 1 L 的地表水和处理后污水中加入已知量的 80 μm 聚苯乙烯微球，估算回收率。在预筛步骤之前进行加标，以模拟 1000 μm 金属筛网过滤过程中的损失。

## 仪器

本研究使用 Clarity 软件控制的 8700 LDIR 激光红外成像系统。只需从 Clarity 软件中选择微塑料分析方法，就可以用 8700 LDIR 轻松分析红外反射玻片上的所有微塑料颗粒。8700 LDIR 系统采用量子级联激光器 (QCL) 光源，实现对选定区域的快速红外扫描数据采集，定位选定区域范围内的所有颗粒。该系统会收集每个颗粒的高质量光谱成像数据，软件自动进行谱库检索，进行颗粒鉴定，每个颗粒的分析时间约 8 秒。软件会自动生成报告，其中包括鉴定出的颗粒总数、各个颗粒的尺寸大小（包括宽度、高度、直径、周长、实心度）以及和参比谱库的匹配度。

## 结果与讨论

Agilent 8700 LDIR 激光红外成像系统具有化学特异性和非破坏性。LDIR 系统鉴定了所有受测水基质中不同形状和大小的微塑料，Clarity 软件可自动生成统计数据，快速评估颗粒成分。如果鉴定出的颗粒在谱库中的匹配质量指标 (HQI) 超过 0.8，就会纳入进一步的基质统计分析中。

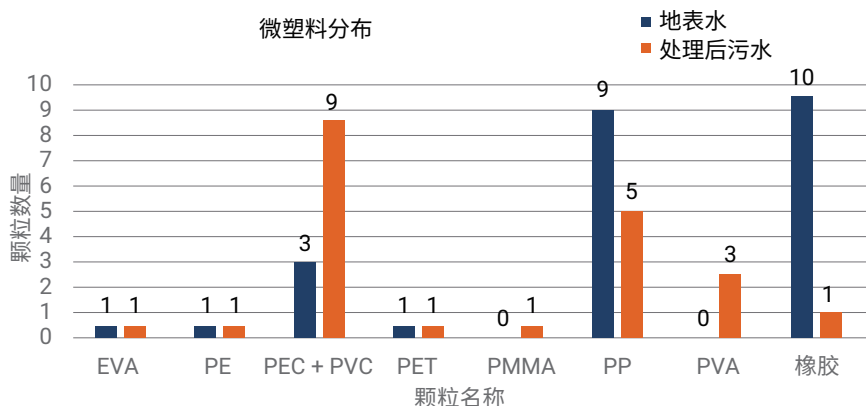
### 样品前处理可靠性

为了评估样品前处理流程的可靠性，在对六个作为阳性对照样品的技术重复样品进行分析后，计算了 80 μm 聚苯乙烯微球的回收率和测量的重现性。所得的平均回收率为 73%，且有 < 10% RSD 的重现性。良好的回收率和 %RSD 值证明了颗粒提取方法的效果。

### 真实水样中的微塑料

即使基质中存在有机物或无机物干扰，8700 LDIR 激光红外成像系统仍能鉴定颗粒。8700 使用 QCL 红外光源技术、检测器和快速扫描光学元件，能够获得每个微粒的红外光谱，在数秒内快速鉴定颗粒。

在地表水样品的检测中，1 L 样品中测得了 6 种已知成分的 25 个混合微塑料颗粒。氯化聚乙烯 (PEC)、聚丙烯 (PP) 和橡胶是最普遍的颗粒，在颗粒总量中占比高于 90%。在地表水中还检测出了少量的乙烯-醋酸乙烯酯共聚物 (EVA)、聚乙烯 (PE) 和聚对苯二甲酸乙二醇酯 (PET)。在 1 L 处理后污水中检测出了 22 个微塑料颗粒。PEC、聚氯乙烯 (PVC)、PP 和聚乙烯醇 (PVA) 是最主要的微塑料颗粒。其余颗粒经鉴定为 EVA、PE、PET、聚甲基丙烯酸甲酯 (PMMA) 和橡胶。地表水 and 处理后污水中的颗粒汇总如图 2 所示。



缩写	颗粒	粒径范围 (μm)	
		地表水	处理后污水
EVA	乙烯-醋酸乙烯酯共聚物	29	49
PE	聚乙烯	43	13
PEC + PVC	氯化聚乙烯+聚氯乙烯	26-36	31-286
PET	聚对苯二甲酸乙二醇酯	80	36
PMMA	聚甲基丙烯酸甲酯	-	28
PP	聚丙烯	30-549	63-110
PVA	聚乙烯醇	-	42-65
	橡胶	32-128	38

图 2. 地表水样品和处理后污水样品中的颗粒汇总



# 使用单颗粒 (sp) ICP-MS 实现聚苯乙烯微塑料的粒径分析

通过使用 Agilent 8900 ICP-MS/MS 监测  $^{13}\text{C}$ ，研究在可控环境中的紫外降解过程中的微塑料颗粒变化

## 材料与样品前处理

在这项研究中，将聚苯乙烯 (PS) 微球用作 MP 进行分析。两种 PS 微球悬浊液 (球形，重量比 10.0%)，一种粒径 800 nm (部件号：PL6008-4101；认证平均粒径：805 nm)，另一种粒径 1000 nm (部件号：PL6010-4101；认证平均粒径：1024 nm)，均来自安捷伦。含有三种不同粒径的 PS (球形，1.8  $\mu\text{m}$ ，3  $\mu\text{m}$  和 5  $\mu\text{m}$ ) 的微球粉末购自 Tesulang Inc. (中国广东)。通过扫描电子显微镜 (SEM，日立 SU8010，日本) 测量了这三种 PS 微球粉末的平均直径，分别为  $1.82\pm 0.11 \mu\text{m}$ 、 $2.97\pm 0.19 \mu\text{m}$  和  $4.96\pm 0.14 \mu\text{m}$ ，如图 1 所示。配制所有 MP 悬浊液样品和/或用去离子水 (DIW) 稀释至 2–50 mg/L (取决于 MP 粒径) 的浓度范围，然后进行分析。

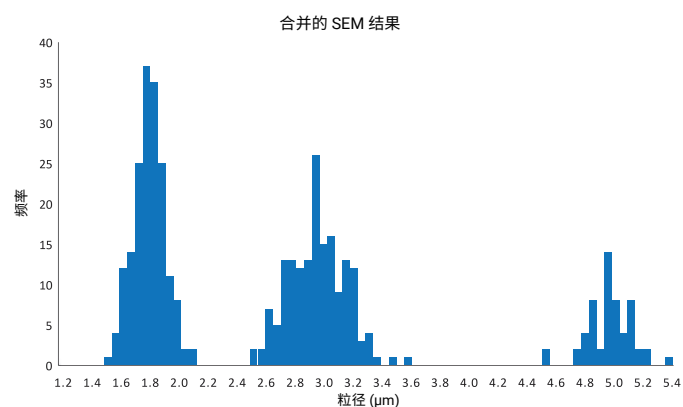


图 1. 本研究中使用的三种微球粉末的合并 SEM 结果。每种粉末测得的 PS 粒径分别为  $1.82\pm 0.11 \mu\text{m}$  ( $n=175$ )、 $2.97\pm 0.19 \mu\text{m}$  ( $n=168$ ) 和  $4.96\pm 0.14 \mu\text{m}$  ( $n=55$ )

## 仪器

spICP-MS 方法使用 Agilent 8900 串联四极杆 ICP-MS (ICP-MS/MS)。进样系统包括具有 1.0 mm 内径中心管的石英炬管 (部件号：G3280-80081)、标准石英雾化室、标准玻璃同心雾化器和镍尖接口锥。使用内径 0.51 mm 的 PTFE 管线 (部件号：8003-0689) 通过自提升将样品引入 ICP-MS。8900 包括两个四极杆 Q1 和 Q2，位于 ORS<sup>4</sup> 碰撞/反应池 (CRC) 的两侧，可实现 MS/MS 操作模式。在这项研究中，使用 MS/MS，将 Q1 和 Q2 均设置为  $m/z = 13$ ，在无气体模式下测定  $^{13}\text{C}$ 。上述操作条件提供了更好的信噪比 (S/N) 和更低的粒径检出限，原因可能是在 MS/MS 模式下消除了  $^{12}\text{C}$  的峰拖尾重叠的干扰。表 1 列出了典型的仪器操作参数。Agilent ICP-MS MassHunter 软件 5.1 版中的单颗粒模块被用于数据采集、校准、计算样品中的颗粒数、浓度和粒径分布。

表 1. 用 Agilent 8900 ICP-MS/MS 进行聚苯乙烯微塑料 spICP-MS 分析的典型仪器参数和采集设置

参数	设置
RF 功率 (W)	1600
采样深度 (mm)	6.0
雾化器气体流速 (L/min)	0.78
动能歧视电压 (V)	5
样品进样流速 (mL/min)	0.08
Q1 → Q2 质量 ( $m/z$ )	13 → 13
积分时间 (ms)	0.1
采集时间 (s)	60

## 紫外降解处理过程

为研究 MP 的紫外降解过程，在石英烧杯中使用去离子水通过多步稀释制备 10 mg/L 的 PS MP (5  $\mu\text{m}$ ) 的悬浊液。使用玻璃搅拌器、超声分散、涡旋等方法混匀悬浊液，确保 MP 均匀分散。使用 36 W 紫外灯 (CNLIGHT，中国) 进行 MP 的紫外光降解，如图 2 所示。在实验过程中，通过搅拌确保 MP 良好地分散在悬浊液中 (没有 MP 附着在烧杯壁上的迹象)。在 0、12、16 和 20 小时后用玻璃移液器收集紫外降解的 MP。采用 spICP-MS 方法分析样品。

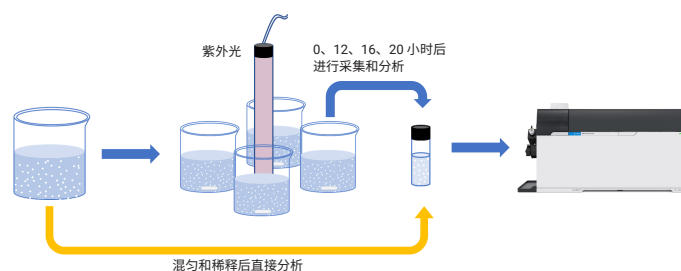


图 2. 实验工作流程图示

## 结果与讨论

使用 8900 ICP-MS/MS 在 spICP-MS 模式下运行，确定样品中 PS MP 的粒径和颗粒数量浓度。 $^{13}\text{C}$  信号强度与 PS MP 的粒径有关，采集时间内的峰的个数用以计算 MP 的颗粒数量浓度。

### 确定 PS MP 的粒径和粒径分布

使用 spICP-MS 方法通过监测  $^{13}\text{C}$  确定各种 PS MP 悬浊液（即 0.8  $\mu\text{m}$ 、1  $\mu\text{m}$ 、1.8  $\mu\text{m}$ 、3  $\mu\text{m}$  和 5  $\mu\text{m}$ ）的粒径分布。如图 3 所示，绘图显示每种 PS MP 悬浊液的平均信号强度值（每秒计数，CPS）与 MP 的体积（视为固体球体）的关系。5 种粒径的悬浊液结果呈现良好的线性关系 ( $R^2 = 0.9999$ )，表明该方法具有分析 0.8–5  $\mu\text{m}$  的 PS MP 粒径的较宽的适用范围。

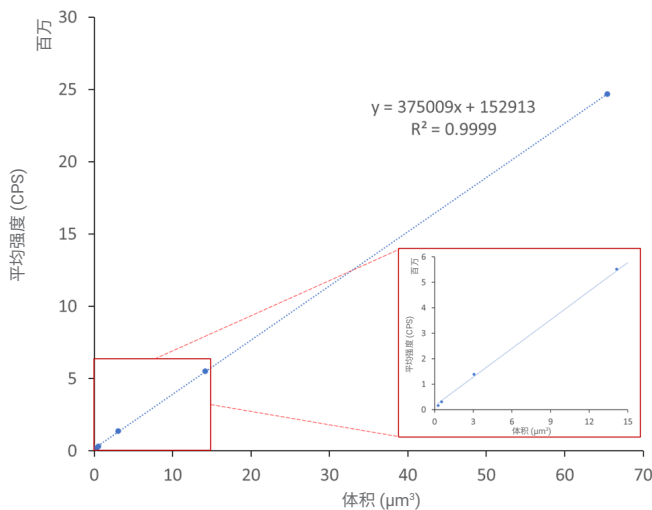


图 3. 由 spICP-MS 确定的 PS MP 粒径的校准曲线。使用平均信号强度 (CPS) 与颗粒体积 ( $\mu\text{m}^3$ ) 进行绘制。数据来自表 2

将 1.8  $\mu\text{m}$ 、3  $\mu\text{m}$  和 5  $\mu\text{m}$  PS MP 混合，质量比为 1:4.6:20.1，用 spICP-MS 进行分析。通过每种被测定的颗粒的 CPS 结果和校准曲线计算粒径数据。如图 4 所示，结果与 SEM 成像在测试粒径范围内获得的粒径分布结果非常吻合。

0.8  $\mu\text{m}$  和 1  $\mu\text{m}$  PS MP 的粒径分布同样基于图 3 所示的 spICP-MS 校准曲线计算得出。平均粒径分别为  $0.86 \pm 0.11 \mu\text{m}$  和  $1.03 \pm 0.18 \mu\text{m}$ ，在 PS 微球悬浊液的标称值范围内。结果表明，spICP-MS 方法可以为 PS MP 提供准确的粒径分布数据。

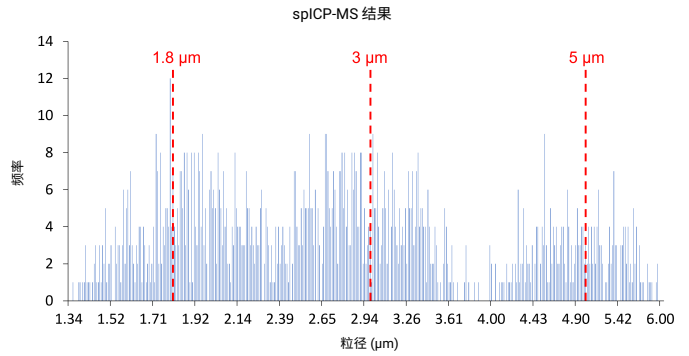


图 4. 三种粒径的混合 PS 微球粉末的 spICP-MS 分析结果

雾化效率计算：需要使用雾化效率 ( $\eta_{neb}$ ) 计算未知样品中颗粒的数量浓度。在本文中，根据公式 1 计算 PS MP 的  $\eta_{nebo}$

$$\eta_{neb} = \frac{N_p}{C_{prepared} \times v \times T}$$

其中  $N_p$  是采集时间内检测到的颗粒数。 $C_{prepared}$  是为 spICP-MS 分析制备的悬浊液的颗粒数量浓度 (颗粒数/L)， $v$  是样品进样流速 (L/s)， $T$  是总采集时间 (s)。

计算结果表明，各种 PS MP 悬浊液的雾化效率在 0.5%–1.9% 之间。如表 2 显示，颗粒粒径越大， $\eta_{neb}$  值越小。

颗粒数量浓度检出限计算：根据公式 2 计算颗粒数量浓度检出限 (LOD, 颗粒数/L)。

$$LOD = 3 \times \frac{1}{\eta_{neb} \times v \times T}$$

其中  $\eta_{neb}$  是雾化效率， $v$  是样品进样流速 (L/s)， $T$  是总采集时间 (s)。

使用公式 2，spICP-MS 方法的颗粒数 LOD 在  $2.0 \times 10^6$  至  $6.9 \times 10^6$  颗粒数/L 范围内，具体取决于 MP 的粒径。

雾化效率随 MP 粒径变化显著。因此，在计算未知样品中 MP 的浓度数量时，应根据不同的粒径范围（即  $> 3 \mu\text{m}$ ，1.8–3  $\mu\text{m}$  和 0.8–1.8  $\mu\text{m}$ ）使用  $\eta_{neb}$ ，以便此方法能够更好地估计 MP 的颗粒数量浓度。

表 2. 用于分析 5 种不同粒径 PS MP 的 spICP-MS 方法的典型雾化效率和平均信号强度

粒径 ( $\mu\text{m}$ )	雾化效率 (%)	平均信号强度 (CPS)
0.805	1.9	1.67E+05
1.011	1.5	3.07E+05
1.8	0.8	1.39E+06
3	0.8	5.51E+06
5	0.5	2.47E+07

### PS MP 粒径在紫外降解过程中会发生变化

在实验室模拟环境中，使用开发的 spICP-MS 方法定量 5 μm PS MP 颗粒数和粒径，研究了紫外降解的影响。在初步实验中，在紫外线暴露 0、12、16 和 20 小时后采集 MP 样品，并通过 spICP-MS 分析样品。

如图 5 所示，spICP-MS 检测结果清楚地表明，在 20 小时的紫外降解过程中产生了亚微米到微米级粒径的次级 MP。测得的粒径分布表明，通过本方法可以详细追踪 MP 降解的动力学过程。在降解的前 12 h，平均粒径从 4.9 μm 下降到 4.1 μm，并检测到更小粒径 (< 1.8 μm) 的 MP。16 h 和 20 h 时 MP 粒径分布的变化表明，平均粒径分别降至 3.3 和 2.2 μm，并产生大量 < 1.8 μm 粒径的 MP。

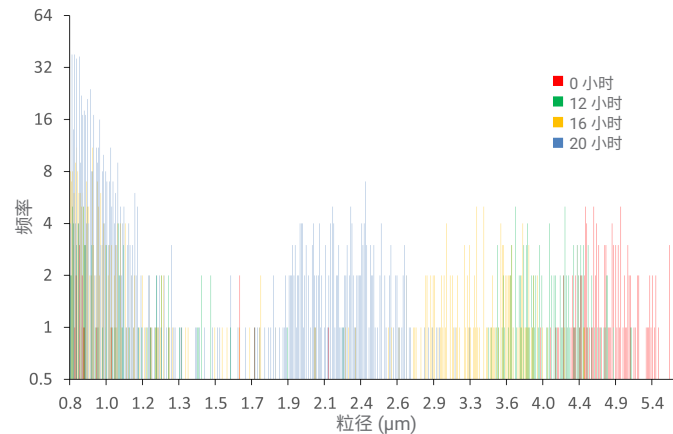


图 5. 0、12、16 和 20 小时的紫外降解实验后 MP 的 spICP-MS 粒径分布结果

为了解 MP 在紫外降解过程中颗粒数量浓度变化的动态过程，通过 spICP-MS 获得了初始粒径为 5 μm 的 MP 颗粒在各个采样时间点的颗粒数量浓度分布 (表 3)。在最初的 12 小时内，各个 MP 粒径分段的颗粒数量浓度 (> 3 μm, 1.8–3 μm 和 0.8–1.8 μm) 变化不大。16 和 20 小时后，中型 (1.8–3 μm) MP 的颗粒数量浓度显著增加。这一增加与较大粒径 (> 3 μm) MP 颗粒数量浓度在 20 小时后下降到  $4.6 \times 10^6$  颗粒数/L 的 LOD 以下相吻合。此外，紫外线暴露 12 至 20 小时后，较小 MP (0.8–1.8 μm) 的颗粒数量浓度从大约  $4.14 \times 10^7$  显著上升至  $3.58 \times 10^8$  颗粒数/L。较小粒径的颗粒增加表明在紫外降解过程中会产生碎裂的次级 MP。

表 3. 紫外降解实验 0、12、16 和 20 小时后的平均颗粒数量浓度结果。颗粒的原始粒径为 5 μm

时间 (h)	颗粒数量浓度 (颗粒数/L)			
	0.8–1.8 μm	1.8–3 μm	> 3 μm	总计
0	7.53E+06	< LOD	1.78E+08	1.87E+08
12	4.14E+07	8.48E+06	1.63E+08	2.13E+08
16	6.08E+07	9.09E+07	1.49E+08	3.01E+08
20	3.58E+08	2.13E+08	< LOD	5.74E+08

# 新污染物非靶向筛查解决方案



## 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

### 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<sup>[2]</sup>，用于所有下游数据处理。

### 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<sup>[3,4]</sup> 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 <sub>2</sub> 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

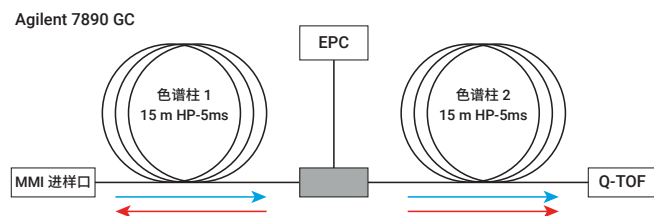


图 1. 柱中反吹配置。红色箭头表示运行结束时反吹过程中的氮气流路。吹扫三通接头处的压力升高，而进样口压力降低。这使得第一根色谱柱中的气流反向，使高沸点化合物通过分流出口排出

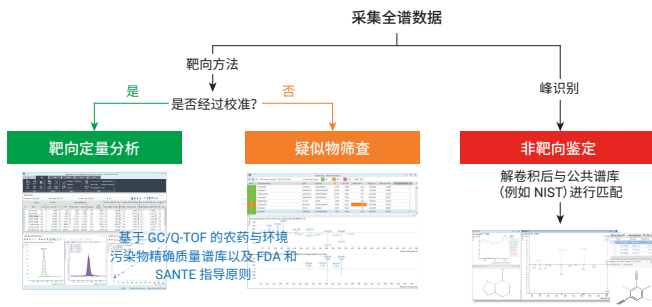


图 2. 污染物筛查工作流程, 结合了使用 GC/Q-TOF PCDL 的靶向和疑似物筛查方法以及使用 NIST 谱库且随后进行未知物结构解析的非靶向筛查

### 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:  $< 5$  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。

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)。

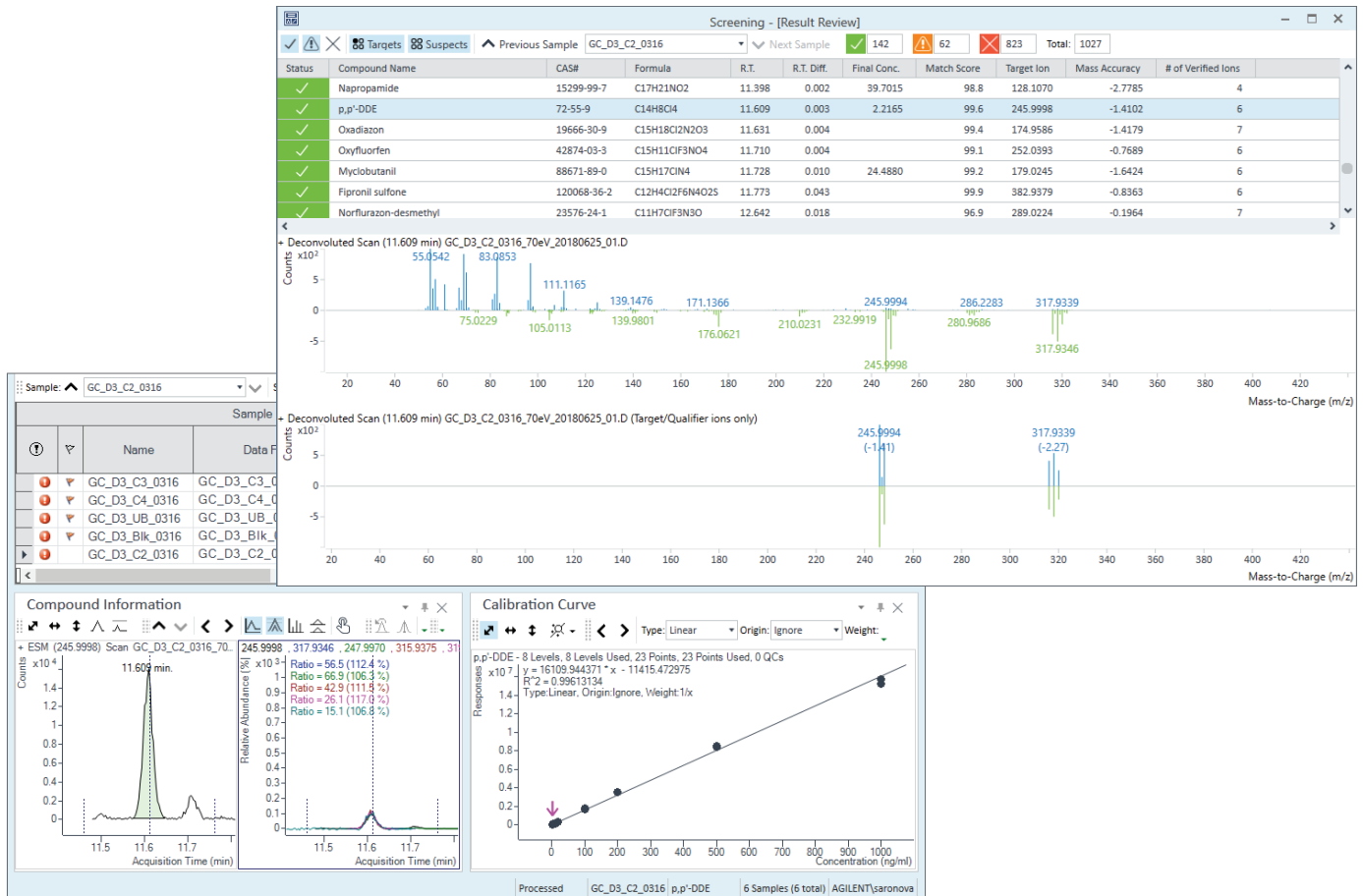


图 3. Agilent MassHunter 定量分析软件 10.1 中的疑似物筛查。筛查和定量结果窗口结合在一起, 以简化审查过程



表 2. 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
噻菌酯	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
噻菌环胺	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
氟啶醇	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
异恶唑草胺	88.1	1.46	仅 ID

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)
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
p,p'-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
氨基乐灵	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
啉霉胺	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。

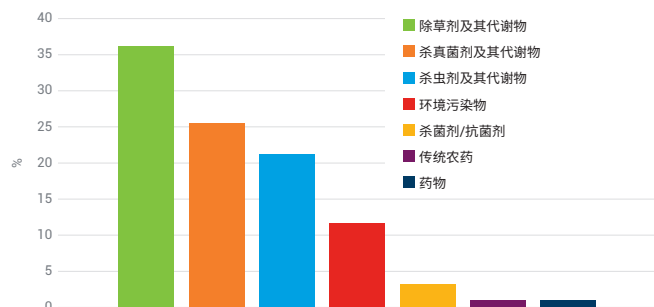
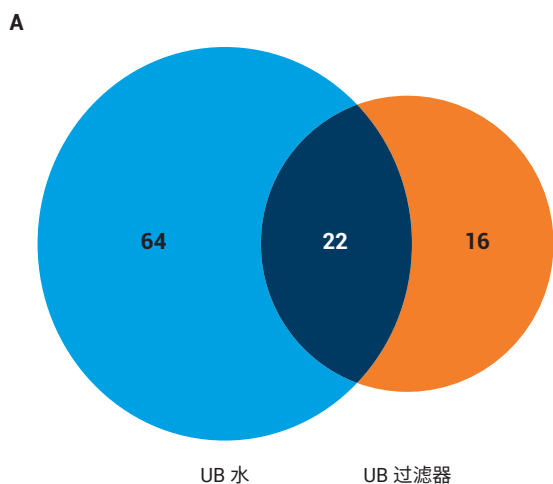


图 4. 通过 GC/Q-TOF 筛查工作流程和 PCDL 鉴定出的 UB 采样点的污染物分布



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         |
| 荧蒹        | 反式氯菊酯         |
| 苊         | 苯并[b]荧蒹       |
| 反式九氯      | 苯并[a]苊        |
| p,p'-DDD  | 邻苯二甲酸二壬酯      |
| 邻苯二甲酸二己酯  | 茚并[1,2,3-cd]苊 |

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。

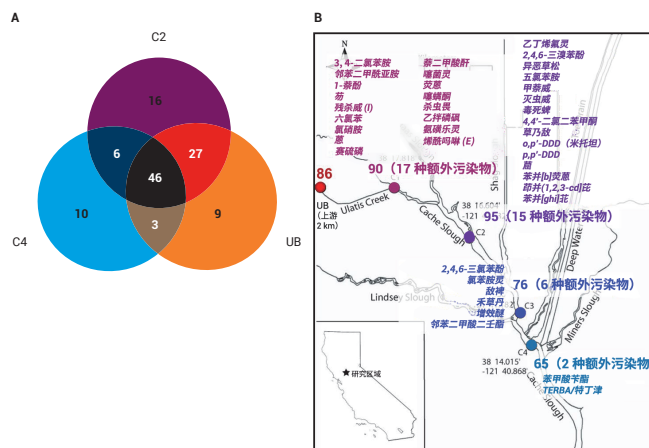


图 6. 污染物的地理分布。UB、C2 和 C4 采样点鉴定出的污染物的比较 (A)。采样地图显示了鉴定出的污染物数量以及每个采样点水流中增加的新污染物的数量 (B)

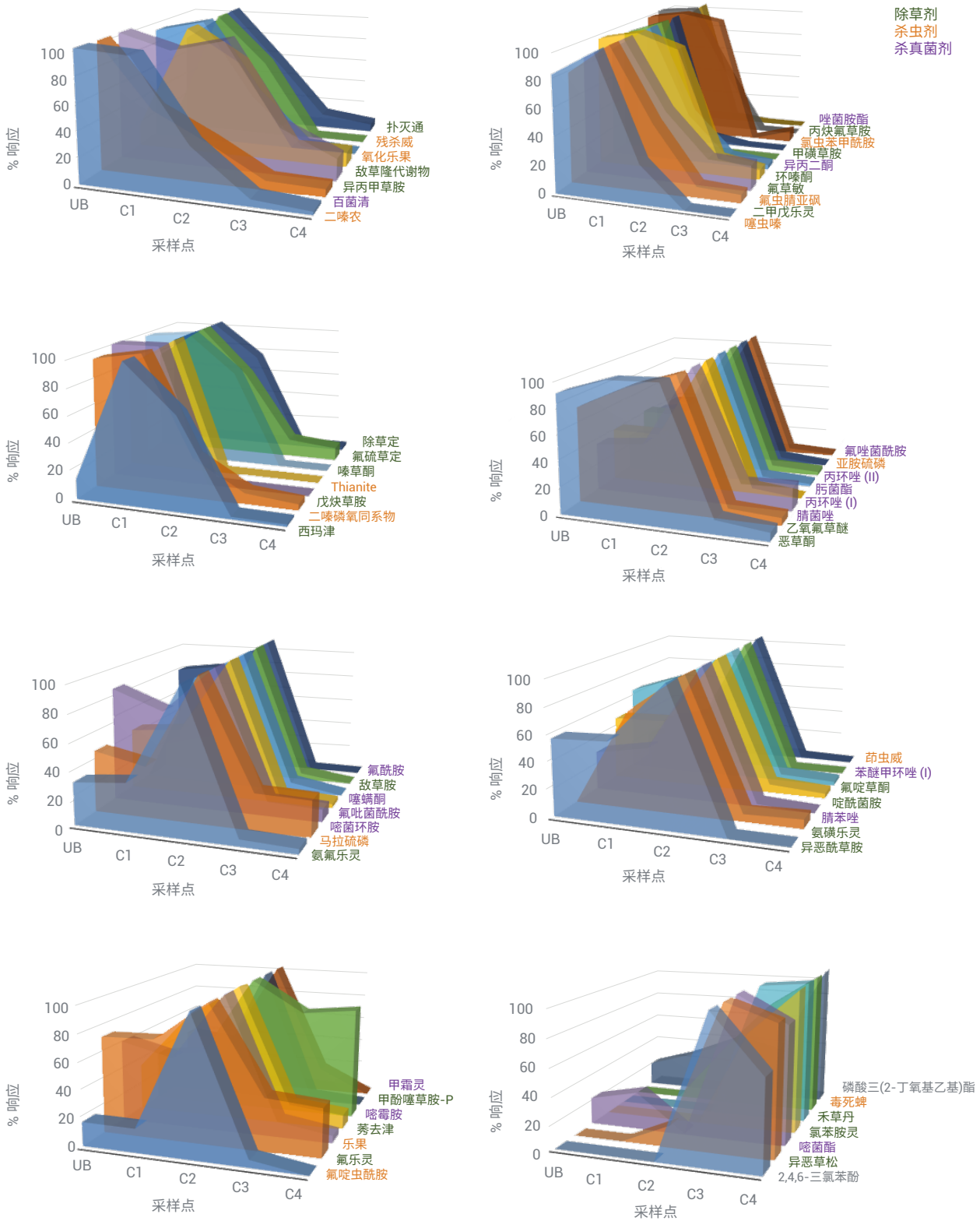
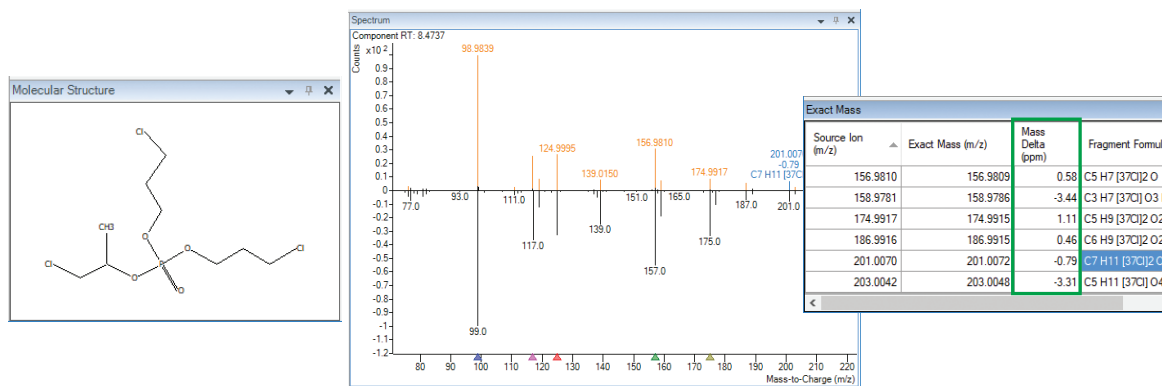
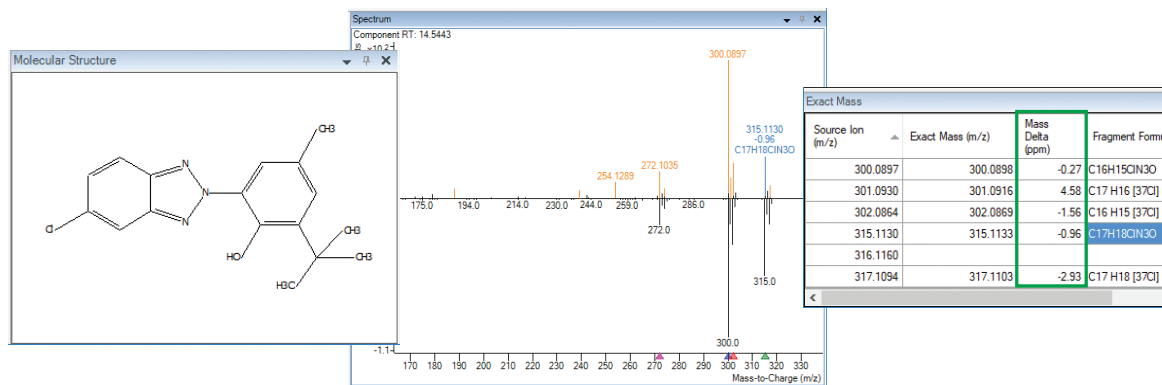


图 7. 所有采样点鉴定出的污染物的相对含量。根据化合物的地理分布情况对其进行分组

初步匹配：磷酸二(3-氯-2-丙基)(1-氯-2-丙基)酯 (C<sub>9</sub>H<sub>18</sub>Cl<sub>3</sub>O<sub>4</sub>P)



初步匹配：布美三唑 (C<sub>27</sub>H<sub>18</sub>ClN<sub>3</sub>O)



初步匹配：甲氧沙林 (C<sub>12</sub>H<sub>8</sub>O<sub>4</sub>)

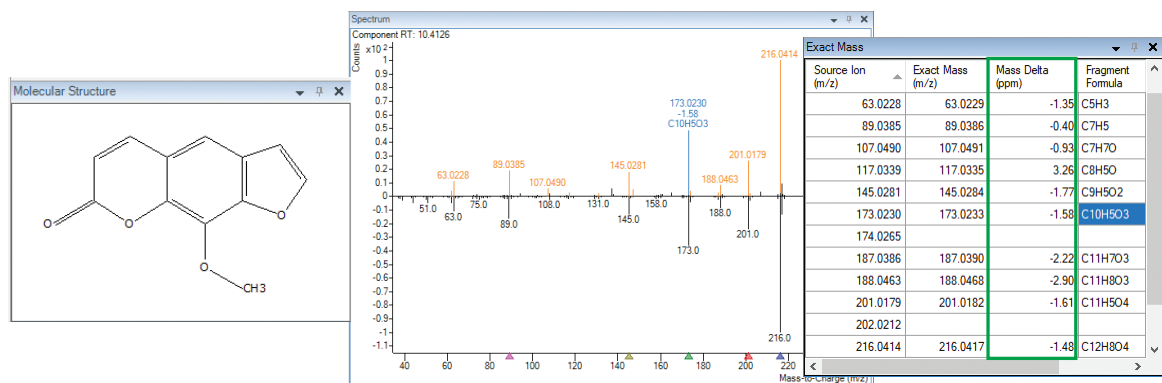


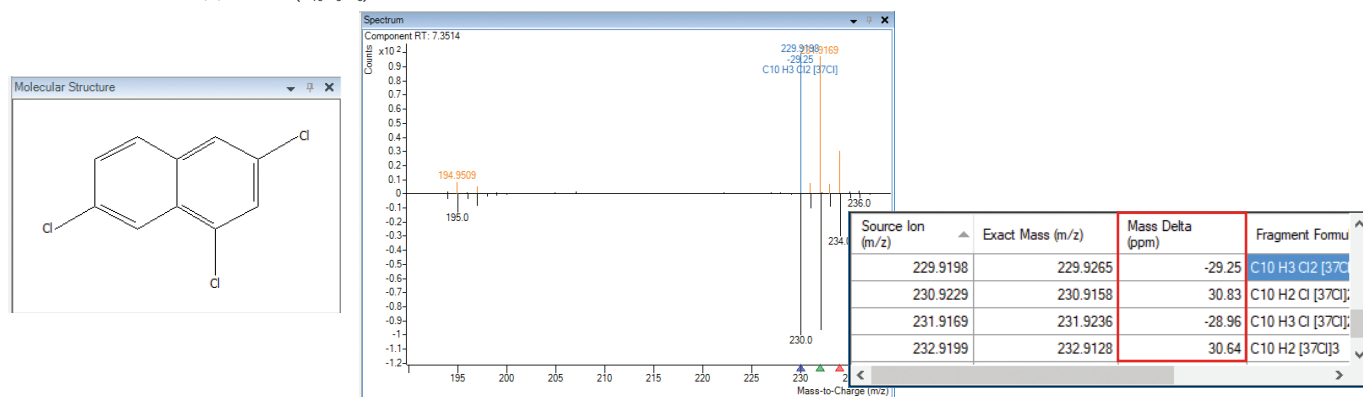
图 8. 使用 Agilent MassHunter 未知物分析软件和 NIST17.L 谱库初步鉴定出的 UB 采样点的污染物示例。解卷积谱图中碎片的低质量误差为确认匹配分子式提供了额外的依据

## 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 定性分析软件中的分子式生

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）。

**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**

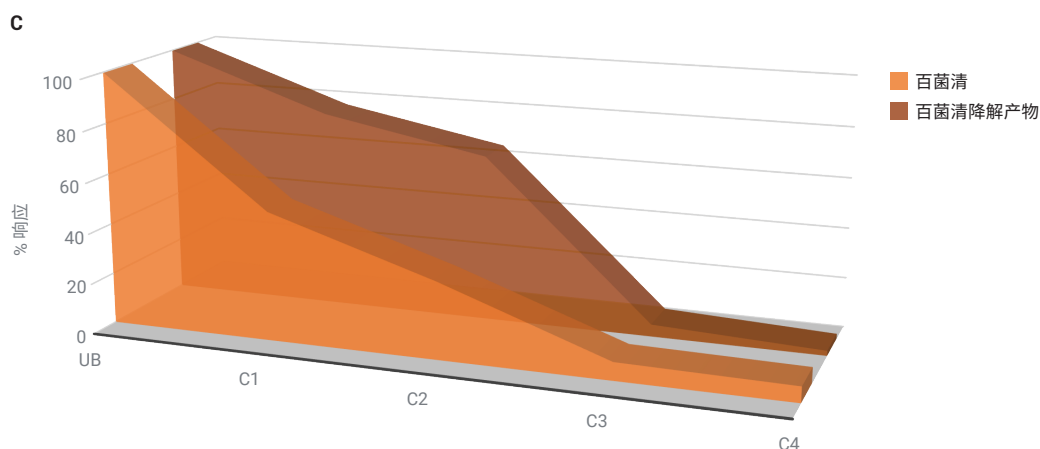
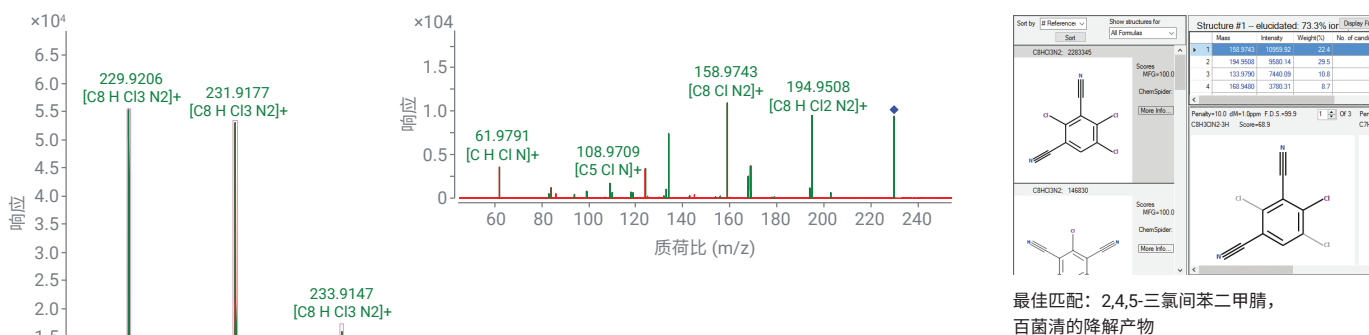


图 9. 一项初步匹配结果的鉴定确认和结构解析。明显的质量误差表明化合物鉴定错误 (A)。使用分子结构关联工具, 以精确质量产物离子谱图作为起始条件对化合物进行了鉴定 (B)。百草清及其降解产物 2,4,5-三氯间苯二甲胺在各采样点的分布 (C)

# 使用高分辨率 Agilent 7250 GC/Q-TOF 分析废水出水样品以鉴定有毒化学物质

## 样品

废水出水样品 (94940、94941、94943 和 94944) 在连续五天的第 1 天、第 2 天、第 4 天和第 5 天采集，每个样品一式两份。前两个样品表现出对模糊网纹蚤 (*Ceriodaphnia dubia*) 的急性毒性，如排水综合毒性 (WET) 测试结果所示。

样品通过 GF/F 过滤器 (0.45  $\mu\text{m}$ ) 过滤，流经亲水反相固相萃取柱。用乙酸乙酯和甲醇洗脱干燥的萃取柱。在超声浴中用己烷/丙酮 1:1 萃取干燥的过滤器。将两种提取物混合，加入二溴八氟联苯 (DBOFB) 作为内标。

使用与 Agilent 8890 GC 联用的高分辨率 7250 GC/Q-TOF 对样品进行分析，其中 GC 采用 15  $\times$  15 m 柱中反吹配置 (图 1)。利用 20 分钟保留时间锁定 (RTL) 方法 (将甲基毒死蜱的 RT 锁定至 9.143 分钟)，确保与农药和环境污染物的 GC/Q-TOF 精确质量谱库的 RT 保持一致。该方法所用的反吹有助于保持一致的 RT，避免交叉污染，延长色谱柱寿命，并减少离子源污染。

在电子轰击电离 (EI) 和负离子 CI (NCI) 模式下对样品进行筛查，确保废水出水中常见的拟除虫菊酯和其他卤代化合物获得最佳分析灵敏度。随后利用正离子 CI (PCI) 辅助化合物鉴定，因为它有助于形成分子离子加合物。分析条件如表 1 所述。

## 疑似物筛查工作流程

在 EI 模式下采集的 GC/Q-TOF 数据首先用 MassHunter 定量分析软件 10.1 中提供的 GC/Q-TOF 筛查工作流程进行处理。目标物列表基于经全面优化的精确质量数农药个人化合物数据库与谱库 (PCDL)，该 PCDL 中包含 1000 多种独特的化合物。为提高数据处理速度和质量，在分析之前将 GC/Q-TOF 数据转换为 SureMass 格式。筛查方法由 GC/Q-TOF 农药和环境污染物的 PCDL 自动创建，共使用七个最具特异性的精确质量离子及其在每个谱图中的比率。筛查方法参数根据 SANTE<sup>[1]</sup> 和 FDA<sup>[2]</sup> 指南进行设置，包括 RT 窗口、质量数准确度和谱库匹配得分等。

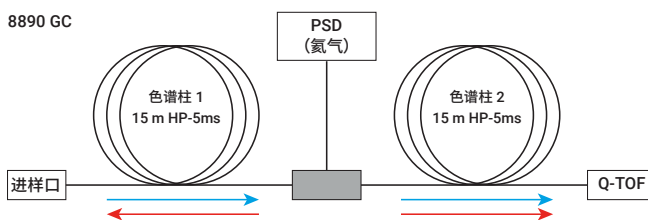


图 1. 柱中反吹配置。运行结束时反吹过程中的氮气流路以红色箭头指示。吹扫两通接头处的压力升高，而进样口的压力下降。这导致第一根色谱柱中的载气流向反转，并能通过分流出口除去高沸点化合物。气路反吹模块 (PSD) 是 Agilent 8890 GC 气路控制模块，提供了反吹功能，同时大大减少了载气消耗量

表 1. GC/Q-TOF 采集参数

GC 和 MS 条件	EI	负离子 CI	正离子 CI
GC	Agilent 8890 GC		
色谱柱	2 根 HP-5ms UI, 15 m, 0.25 mm, 0.25 $\mu\text{m}$ 色谱柱		
进样口	MMI, 4 mm UI 单细径锥衬管, 带玻璃毛		
进样量	1 $\mu\text{L}$		
进样模式	冷不分流		
进样口温度	60 $^{\circ}\text{C}$ 保持 0.2 分钟, 以 600 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 的速率升至 320 $^{\circ}\text{C}$		
柱温箱升温程序	60 $^{\circ}\text{C}$ 保持 1 分钟; 以 40 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升至 170 $^{\circ}\text{C}$ ; 以 10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升至 310 $^{\circ}\text{C}$ ; 保持 3 分钟		
载气	氮气		
色谱柱 1 流速	约 1.2 mL/min		
色谱柱 2 流速	约 1.4 mL/min		
反吹条件	5 min (后运行), 310 $^{\circ}\text{C}$ (柱温箱温度), 50 psi (辅助 EPC 压力), 2 psi (进样口压力)		
传输线温度	280 $^{\circ}\text{C}$		
质量数范围	$m/z$ 50–650		
谱图采集速率	5 Hz		
四极杆温度	150 $^{\circ}\text{C}$		
离子源温度	280 $^{\circ}\text{C}$	150 $^{\circ}\text{C}$	280 $^{\circ}\text{C}$
电子能量	70 eV	250 eV	100 eV
发射电流	5 $\mu\text{A}$	10 $\mu\text{A}$	15 $\mu\text{A}$

## 非靶向鉴定工作流程

在非靶向分析方法中，利用 MassHunter 定量分析软件 10.1 中的未知物分析工具对 EI 数据进行处理。在特征查找步骤之后，执行 NIST17 谱库搜索，并在 Agilent Mass Profiler Professional (MPP) 中进行差异分析，以鉴定与废水出水样品更高毒性相关的化合物。为进一步鉴定非靶向筛查中的未知化合物或需要验证其特性化合物的分子离子，将 MassHunter 定性分析软件 10 的分子式标注工具与 EI 和正离子化学电离 (PCI) GC/Q-TOF 配合使用。

为了将 NCI GC/Q-TOF 数据与 GC/Q-TOF 筛查工作流程配合使用，基于在 NCI 模式下采集的谱图创建更聚焦的 (约 120 种化合物，如拟除虫菊酯) 精确质量数 PCDL。然后，使用相同的 GC/Q-TOF 筛查工具对 NCI 数据进行处理。

## 结果与讨论

### EI 模式下的疑似物筛查

使用高分辨率 GC/Q-TOF 分析对模糊网纹蚤表现出不同程度的急性毒性 (0%–80%) 的废水出水样品。利用 MassHunter 定量分析软件 10.1 中提供的筛查工作流程 (图 2) 监测 GC/Q-TOF PCDL 中包含的许多重要农药和环境污染物的。

使用该工作流程，通过 EI GC/Q-TOF PCDL 在各种废水出水提取物中鉴定出 90 多种化合物，质量数准确度 < 5 ppm，谱库匹配得分 > 75。图 3 显示了 EI 筛查窗口以及报告的示例。在筛查工作流程中自动得到验证的化合物标记为绿色。

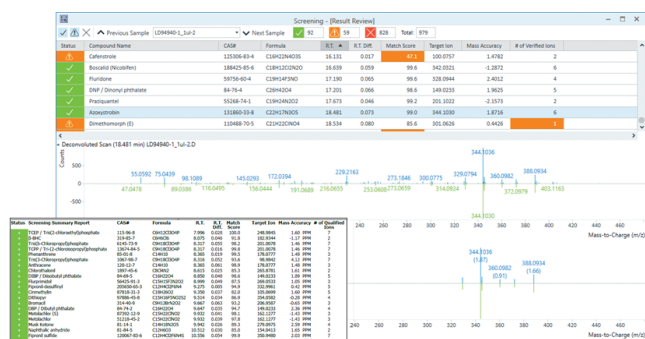


图 3. Agilent MassHunter 定量分析软件 10.1 中基于 EI PCDL 的筛查。自动验证的化合物标记为绿色。需要额外审查的化合物标记为橙色。下方显示了一个部分报告示例

需要进行额外手动审查的化合物标记为橙色。这些初步匹配结果 (以橙色突出显示) 即使只含一个失败的参数 (例如谱库匹配得分或经验证的离子数量)，也可能是假阳性结果，除非它们的谱图中只有少数 (而非选择性) 离子或具有较低的响应。GC/Q-TOF 疑似物筛查工作流程具有很高的灵活性，因此分析方法可以针对这些挑战性化合物进行专门优化。

在 GC/Q-TOF 筛查中鉴定出的化合物在不同样品之间表现出略有不同的响应水平，按其造成的模糊网纹蚤死亡率 (%) 分组列于表 2 中，其中某些化合物可能需要作为毒性诱因进行研究。

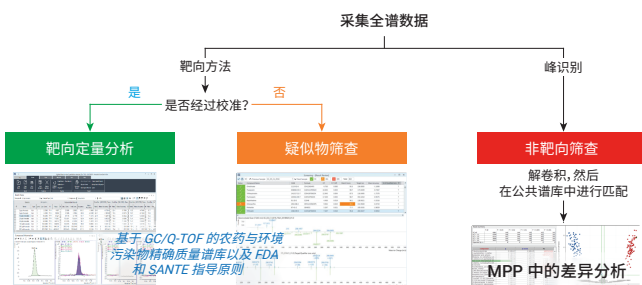


图 2. 组合污染物筛查工作流程基于使用 GC/Q-TOF PCDL 的靶向疑似物筛查方法和使用 NIST 谱库的非靶向筛查方法，所有筛查均采用 Agilent MassHunter 定量分析软件 10.1



表 2. 由 EI 疑似物筛查得到的选定结果。响应值基于样品之间的相对水平进行颜色标记。还显示了定量离子的质量数误差以及谱库匹配得分

样品	死亡率 80%						死亡率 20%						死亡率 0%					
	LD94940-1			LD94940-2			LD94941-1			LD94941-2			LD94943-1			LD94943-2		
	响应	质量数误差	谱库匹配得分	响应	质量数误差	谱库匹配得分	响应	质量数误差	谱库匹配得分	响应	质量数误差	谱库匹配得分	响应	质量数误差	谱库匹配得分	响应	质量数误差	谱库匹配得分
TBEP/磷酸三(2-丁氧基乙基)酯	2013504	2.8	99.9	1502528	3.9	99.9	1289372	2.5	99.9	1559301	3.8	99.9	787113	3.1	99.9	784473	3.8	99.9
磷酸叔丁基苯二苯酯	16799	2.1	92.9	4948	3.2	74.6	2828	1.1	82.5	10468	0.8	91.9	2950	1.3	70.6	2766	0.8	91.9
氯虫苯甲酰胺	6298	0.2	76.8	5330	2.0	79.4	3572	1.7	63.2	3494	1.8	66.4	3458	1.1	52.4	2710	1.8	66.4
氟噻唑	16518	1.3	80.4	15240	0.5	76.4	10698	2.6	73.7	12065	2.1	80.2	6038	2.0	74.2	4976	2.1	80.2
多效唑	16985	0.9	96.8	15763	1.6	98.7	10725	0.9	92.4	12090	2.1	94.9	9106	1.8	79.1	8448	2.1	94.9
TBZ/噻菌灵	1570235	1.4	99.7	1536170	2.4	99.7	1282402	0.6	99.7	1368732	2.2	99.8	774093	0.6	99.7	675439	2.2	99.8
噻菌酯	134463	1.8	99.1	139960	3.0	98.9	109579	1.4	98.9	119004	1.7	98.8	104804	1.7	89.9	94511	1.7	98.8

表 3. NCI 疑似物筛查结果

样品	94940-1		94940-2		94941-1		94941-2		94943-1		94943-2	
	响应	谱库匹配得分	响应	谱库匹配得分	响应	谱库匹配得分	响应	谱库匹配得分	响应	谱库匹配得分	响应	谱库匹配得分
溴氟菊酯	16837	71.4	14202	42.7	6474	83.7	4138	36.3	3253	56.5	4294	36.3
硫丹硫酸酯	3372	98.8	3013	91.9	12182	98.9	11865	99.1	18103	98.8	15859	99.1
氟虫腈	1184481	99.4	989538	99.3	1058932	99.4	898204	99.3	1218463	99.4	1089462	99.3
毒虫畏	22450	94.7	13196	86.3	16668	94.4	14469	94.7	14757	95.7	12834	94.7
氟虫腈	1312800	98.7	1269915	97.7	1255881	97.1	1307988	96.8	1519654	95.8	1350814	96.8
氟虫腈亚砷	201344	99.9	192041	100.0	224062	100.0	218654	100.0	241255	100.0	274001	100.0
氯酞酸甲酯	1730		1409	94.1	1468	94.3	1489	96.2	2204	80.0	1807	96.2
三唑酮	22376	94.1	16547	94.2	19705	96.0	17006	96.4	18710	97.2	16675	96.4
马拉硫磷	474	86.6	249	86.6	0	-	0	-	0	-	0	-
氟甲腈	128886	97.8	111722	97.8	122423	97.8	119001	97.9	164450	97.8	135773	97.9
百菌清	23789	99.4	12226	99.2	14367	99.0	15765	99.1	14714	99.2	12680	99.1
β-BHC	36573	88.4	19696	91.7	25594	81.4	19439	84.7	23983	69.4	13527	84.7
氯硝胺	30089	92.3	33303	93.2	34005	92.6	39632	93.8	44118	95.1	35911	93.8
六氯苯	13573	99.3	10353	99.6	11863	99.3	9934	99.1	14371	98.7	12048	99.1
氟乐灵	10334	86.6	11119	94.1	12089	94.2	11454	92.8	13550	94.5	9293	92.8
2,4-二硝基甲苯	81406	90.1	91627	89.0	75770	84.4	67256	83.3	43423	91.1	41979	83.3
2,4,6-三氯苯酚	2551498	92.2	2250861	91.6	2525758	91.5	2544336	91.4	2707308	91.2	2736603	91.4

### 废水出水样品的 NCI 分析

在 NCI 模式下对前文所述的废水出水提取物进行分析，以确保卤代污染物及其他含有吸电子基团的化合物获得最佳分析灵敏度。NCI 数据用相同的 GC/Q-TOF 筛查工作流程进行分析。创建了包含卤代硝基化合物及其他含有电子俘获基团的污染物更具体的 NCI 谱图 PCDL，以便在 NCI 模式下使用 GC/Q-TOF 筛查方法。平均而言，使用 NCI 模式和 NCI PCDL 能够在各种废水出水中可靠鉴定出约 40 种化合物。图 4 和表 3 显示了 NCI 筛查结果。尽管少数化合物只有一种主要离子或同位素簇并可能需要通过额外工作进行确认(图 4A)，但是在甲烷 NCI 模式下，大多数化合物产生的碎片足以用于 PCDL 筛查工作流程(图 4B)。因此，只要提供相应的 PCDL，该 GC/Q-TOF 筛查工作流程也可应用于 NCI 数据。

使用 EI 和 NCI 筛查方法在废水出水样品中鉴定出许多环境污染物质，其中包括许多农药。但是，在废水出水样品中鉴定出的大多数化合物(包括氟虫腈和氟虫腈降解产物)没有毒性(表 3)，不太可能是表现出的毒性的来源。

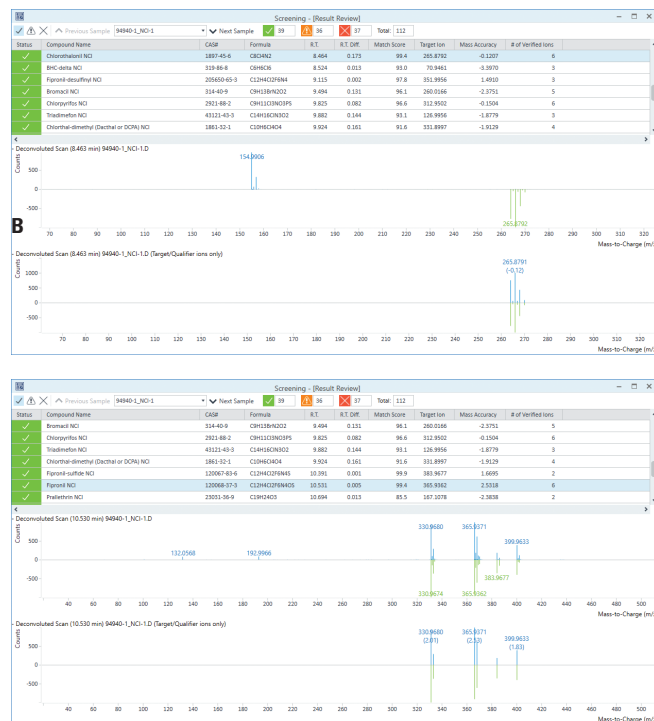


图 4. 在 NCI 模式下使用疑似物筛查鉴定出的化合物示例。下方的镜头图显示了利用筛查算法选择的大多数特定离子的光谱匹配结果。A) 具有极简单 NCI 谱图的匹配结果。B) 在 NCI 谱图有足够数量离子供确认的匹配结果示例

## 废水出水样品的非靶向分析

为鉴定可能与废水出水毒性增加有关的其他污染物，使用非靶向工作流程对数据进行处理。该方法包括在未知物分析工具中进行特征查找，执行 NIST 17 谱库搜索，然后在 MPP 中进行差异分析，以鉴定存在于表现出较高毒性的样品中更重要的化合物（图 2）。

将已鉴定和未鉴定的组分从未知物分析工具中导出为化合物交换格式 (.CEF) 文件，并导入 MPP 中。主成分分析 (PCA) 图表明，这些组分清晰地分为三组，分别对应于三种毒性不同的废水出水（图 5）。

倍数变化与统计显著性的火山图有助于显示大型数据集的变化，在本研究中用于快速检测死亡率为 80% 和 0% 的化合物组之间的差异（图 6）。与导致模糊网纹蚤零死亡率的废水出水提取物相比，导致模糊网纹蚤表现出 80% 死亡率的废水出水中存在许多含量明显更高的化合物。这些化合物可见于火山图的右上角，显示为红色。

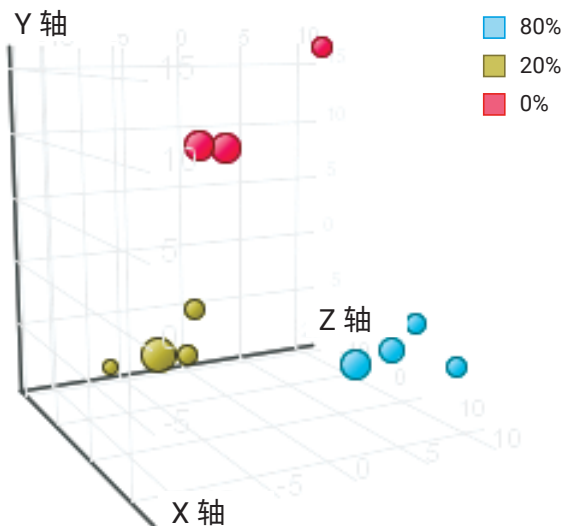


图 5. PCA 图，显示根据废水出水提取物的毒性将其清晰地分为三组

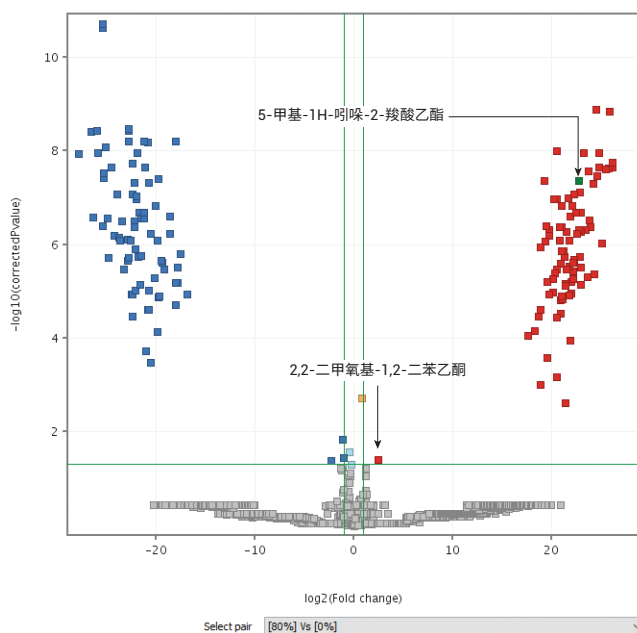
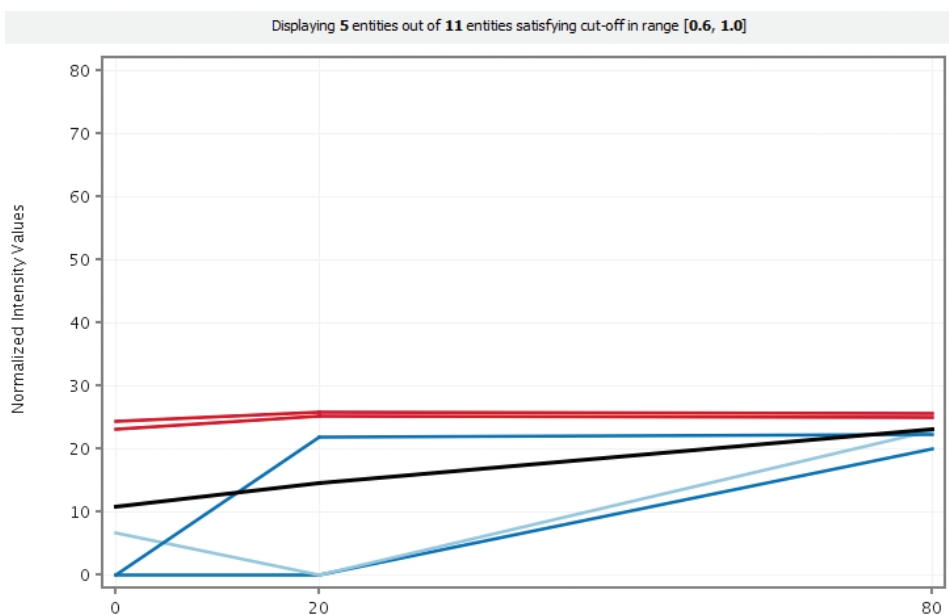
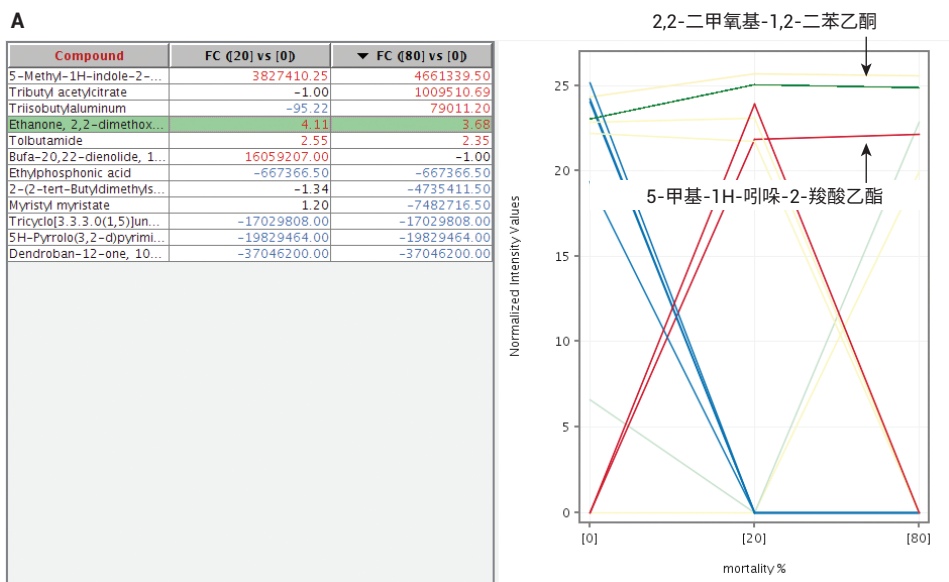


图 6. 火山图，对死亡率为 80% 与死亡率为 0% 的化合物组进行比较。火山图右上角以红色方块标记的化合物是废水出水中含量明显较高的化合物，通过比较死亡率为 80% 的化合物组与死亡率为 0% 的化合物组而得出

为进一步考察废水出水的毒性与提取物中初步鉴定出的化合物之间的相关性，实施了相关分析。在倍数变化 (FC) 截止值为 2 且  $p < 0.05$  条件下得到所有三个排水毒性组的 FC 分析结果，将这些结果用作相关分析的实体列表（图 7A）。选择死亡率百分比作为筛选参数。选择截止值为 0.6 的 Pearson 相似性指标，仅显示具有强相关性的化合物（图 7B 和图 7C）。请注意，选择火山图和相关分析初步鉴定出的几种化合物（图 6 和图 7C）进行进一步的化合物 ID 确认，如下一节所述。

## 初步匹配结果验证与未知物鉴定

利用未知物分析工具中的 ExactMass（碎片分子式标注）功能，确认废水出水毒性相关化合物的特性（图 8A 和图 8B）。考虑到初步匹配结果的分子式，使用 NIST 17.L 谱库初步鉴定为 2,2-二甲氧基-1,2-二苯乙酮的化合物（谱库匹配得分为 85.9）的所有碎片离子均表现出较小的质量数误差（图 8A）。由于第二种目标化合物碎片的  $m/z$  与初步匹配结果的分子式不匹配，因此该化合物鉴定错误（图 8B）。由于该化合物的 EI 谱图未提供任何可检测的分子离子，因此使用 PCI 帮助鉴定分子离子，并结合 MassHunter 定性分析软件的碎片分子式标注工具推测该未知物的分子式（图 8C）。PubChem 数据库建议该化合物的结构对应于乙酰柠檬酸三乙酯（图 8C），该结构与乙酰柠檬酸三乙酯的分子式相关性最高<sup>[3]</sup>。



Compound	Similarity	Alignment Value	Annotations	CAS Number	ChEBI ID	Compound Na...
Tributyl acetylct...	0.97073	Tributyl acetylct...	Tributyl acetylct...	77-90-7		Tributyl acetylct...
Ethanone, 2,2-d...	0.64071	Ethanone, 2,2-d...	Ethanone, 2,2-d...	24650-42-8		Ethanone, 2,2-...
Triisobutylalumi...	0.86491	Triisobutylalumi...	Triisobutylalumi...	100-99-2		Triisobutylalumi...
Tolbutamide	0.63448	Tolbutamide	Tolbutamide [ C...	64-77-7		Tolbutamide
5-Methyl-1H-in...	0.70139	5-Methyl-1H-in...	5-Methyl-1H-in...	1000318-48-3		5-Methyl-1H-in...

图 7. 在 Agilent MPP 中进行相关分析。A) 三个废水出水样品之间的倍数变化 (FC) 分析；B) 对参数输出进行筛选；C) 使用 0.6 的相似性截止值进行相关分析所得的化合物列表

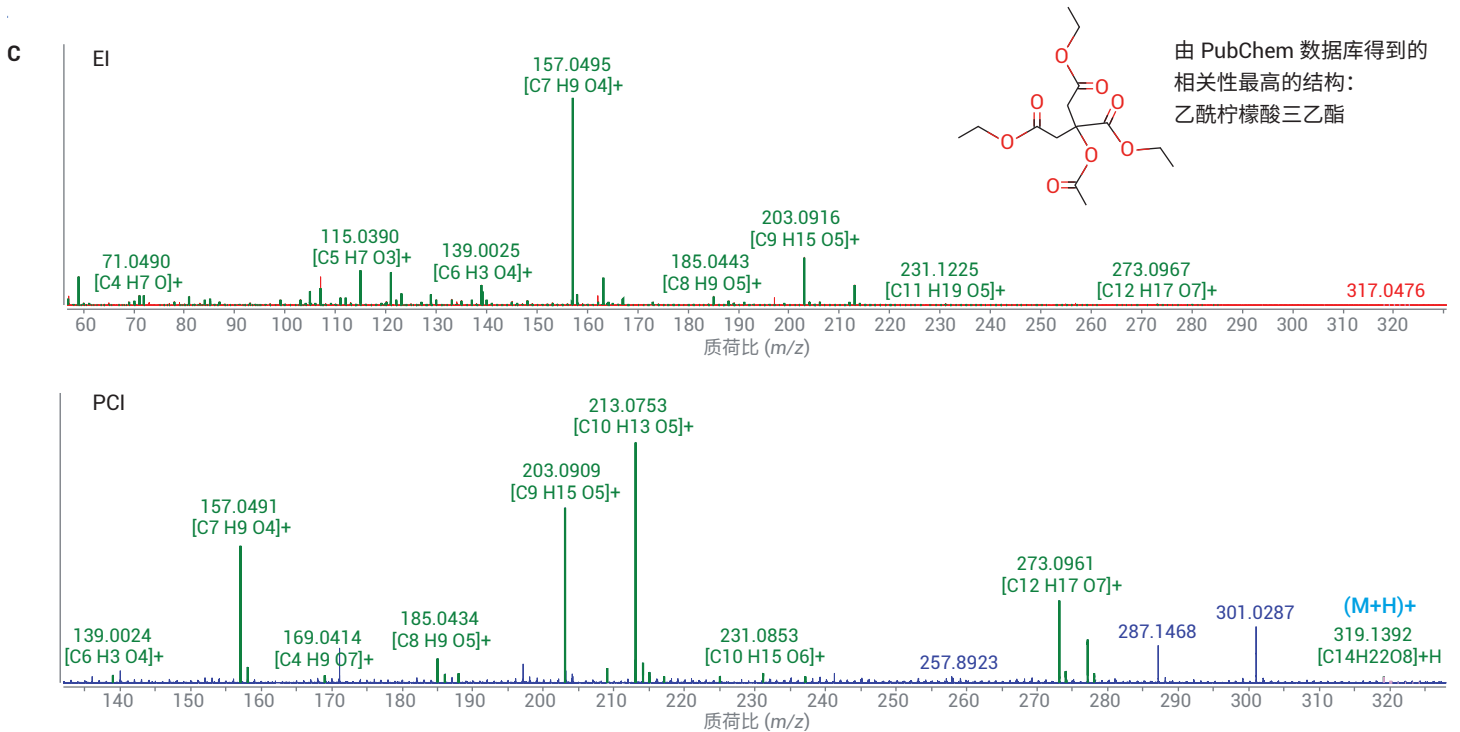
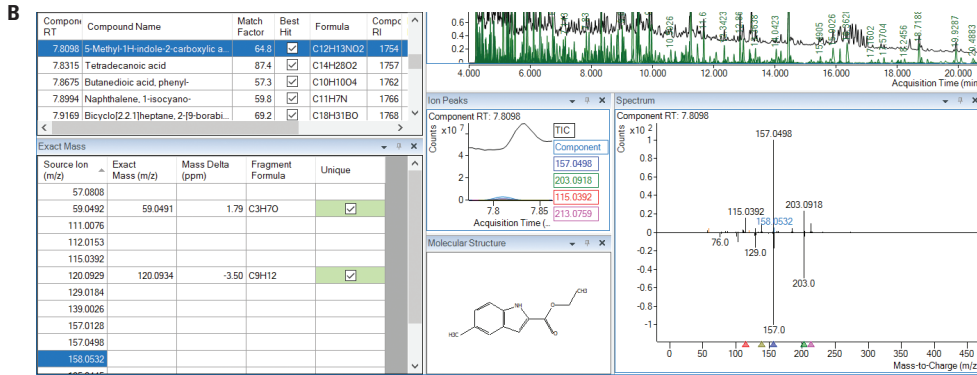
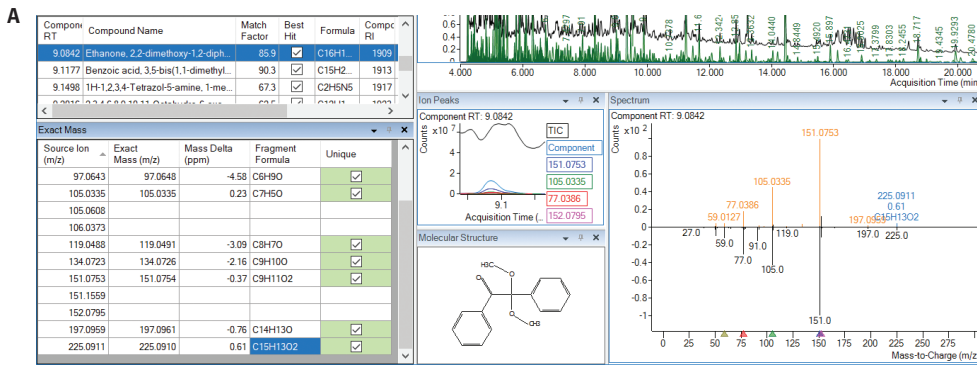


图 8. 利用具有 ExactMass 功能的未知物分析工具进行化合物验证和鉴定: (A) 已确认的 ID, (B) 已拒绝的 ID, 以及具有被拒绝 ID 的化合物 EI 谱图 (C, 上图) 和 PCI 谱图 (C, 下图) 在 Agilent MassHunter 定性分析软件中的碎片分子式标注

# 使用 UHPLC/Q-TOF MS 和精确质量数据库与谱库筛查和鉴定污水处理厂出水中的新兴污染物

## 试剂与标准品

所有试剂和溶剂均为 HPLC 或 LC/MS 级。乙腈、甲醇和乙酸购自 Fluka (Sigma-Aldrich, Buchs, Switzerland)。乙酸铵购自 VWR International (Darmstadt, Germany)。超纯水产自配置 0.22  $\mu\text{m}$  膜式终端过滤器滤芯的 Milli-Q Integral 水纯化系统 (EMD Millipore, Billerica, MA, USA)。为采集精确质量 MS/MS 谱图，各种参比化合物中的大多数化合物购自 Sigma-Aldrich (Buchs, Switzerland) 或 VWR International (Darmstadt, Germany)。转化产物和残留物的参比标样购自 Ehrenstorfer (LGC Standards, Wesel, Germany)。使用农药、药物和滥用药物的混合标准溶液对保留时间进行评估，该混合标准溶液是 LC/MS 农药全套测试混标 (部件号 5190-0551)、LC/MS 法医毒理学全套测试混标 (部件号 5190-0555) 的组成部分，或由研究组提供。

标准储备溶液的配制方法为：根据物质的理化特性不同，将参比化合物溶解于异丙醇、乙腈、甲醇、水或其混合物中。在校准和加标实验中，将农药、药物和滥用药物的全套测试混标制成多分析物工作溶液。标准储备溶液以及多分析物工作溶液在使用之前储存于  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  下。用自来水稀释工作溶液来配制校准样品。

## 样品前处理

在三个半月内 (三月至六月)，采集中欧四家不同污水处理厂的出水，得到 14 天的混合样品。三家污水处理厂的集水区主要为农业区 (AG、AI、A)，而另一个集水区位于市区 (AZ)。其中一家污水处理厂还接纳一部分工业废水 (AL)。三家污水处理厂 (AG、AL、AZ) 采用高效的硝化-反硝化处理，因此预期能够更好地去除痕量污染物。

使用玻璃纤维过滤器对样品进行过滤，并储存于  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  下。在测量前一刻将样品解冻，并将一份样品转移至 HPLC 样品瓶中。

## LC/Q-TOF MS 分析

采用 Agilent 1290 Infinity UHPLC 系统进行分离，该系统包括：

- Agilent 1290 Infinity 二元泵 (G4220A)
- 配备大体积进样工具包 (G4216-68711) 的 Agilent 1290 Infinity 高性能自动进样器 (G4226A)
- Agilent 1290 Infinity 柱温箱 (G1316C)

该 UHPLC 系统与配备双电喷雾安捷伦喷射流电喷雾离子源的 Agilent G6550A iFunnel 四极杆飞行时间液质联用系统结合使用。Q-TOF 液质联用仪在下列条件下操作：

- 采用 Agilent MassHunter 采集软件 B.06.01 版，在两种不同方法中分别采用正离子或负离子电喷雾离子化模式 (ESI) 在 2 GHz 的扩展动态范围模式下运行
- 全离子 MS/MS 采集，采用三次扫描/秒的采集速率和两种不同的碰撞能量
- 自动 MS/MS 采集，在 MS 和 MS/MS 下均采用五次扫描/秒的数据采集速率

在全离子采集方法中使用两种碰撞能量得到包含母离子的低能量通道以及包含母离子和子离子的两个高能量通道的交替谱图。

使用在 1.0 mL/min 的流速下运行的 Agilent Infinity 1260 等度泵 (G1310B) 以及 1/100 分流器 (G1607-60000) 输送参比质量离子。进入参比雾化室的最终流速为 10  $\mu\text{L}/\text{min}$ 。

表 1 列出了色谱条件，而表 2 列出了主要的质谱条件。

使用 MassHunter 定性分析软件 B.07.00 对数据进行评估。如果通过分子式查找数据挖掘算法在精确质量质谱数据中检出的化合物的质量误差小于 5 ppm 并且具有足够高的得分 (包括同位素丰度和同位素质量间距)，则水污染物的鉴定结果将报告为阳性。为峰检测指定  $\pm 1\text{ min}$  的保留时间窗口以补偿由基质变异性引起的保留时间漂移。

表 1. 色谱条件

参数	值
UHPLC 色谱柱	Agilent ZORBAX RRHD SB-Aq, 2.1 × 150 mm, 1.8 μm (部件号 859700-914)
柱温	40 °C
流动相	A) 1 mmol/L 乙酸铵 + 0.1% 乙酸 B) 0.1% 乙酸的乙腈溶液
梯度程序	时间 (min)      % B
	0.0                      0
	2.0                      0
	14.0                    98
	16.0                    98
	19.0                    0
19.5                    0	
停止时间	20.0 min
后运行时间	3.0 min
流速	0.40 mL/min
进样量	100 μL

表 2. 主要 MS 条件

参数	值
载气温度	160 °C
载气流速	16 L/min
雾化器压力	30 psig
鞘气温度	350 °C
鞘气流速	12 L/min
	<b>正离子                      负离子</b>
毛细管电压	4500 V                      3500 V
喷嘴电压	500 V                      1000 V
参比质量校正	121.05087                      112.98559
	922.00980                      1033.98811
<b>全离子 MS/MS</b>	
质量范围	50–1200 amu
扫描速率	3 幅谱图/秒
碰撞能量	0–20–40 V
<b>自动 MS/MS</b>	
MS 质量范围	100–1200 amu
MS/MS 质量范围	50–1200 amu
扫描速率	5 幅谱图/秒 (MS)
	5 幅谱图/秒 (MS/MS)
碰撞能量	20 V

## 结果与讨论

### 农药、药物和个人护理用品的靶向筛查

在对污水处理厂出水中的农药、药物和个人护理用品进行靶向筛查和（半）定量分析时，在碰撞能量为 0、20 和 40 V 的正离子和负离子全离子 MS/MS 模式下对样品进行测量。包含 390 个条目的 PCDL 子集由水质筛查 PCDL 创建得到，其中包括可获得参比标样的所有化合物。首先在 MassHunter 定性分析软件 (B.07.00) 中使用分子式查找数据挖掘算法对校准样品的数据进行评估，质量误差为 ±5 ppm，与预期保留时间相比，保留时间窗口为 ±0.5 min。在正离子化模式下，将  $[M+H]^+$  和  $[M+NH_4]^+$  形态视为电荷载体，在负离子化模式下，则将  $[M-H]^-$  形态视为电荷载体，因为它们可由 PCDL 中包括的大多数精确质量 MS/MS 谱图表示。使用水质筛查 PCDL 作为碎片离子源并评估 MS/MS 质谱库中的五种特异性最强的离子，通过碎片离子确证完成鉴定。在全离子 MS/MS 软件工作流程中，鉴定出与分子离子完美共流出的碎片离子，并检测出理想的碰撞能量和相对比率。该信息传输到 MassHunter 定量分析软件进行（半）定量分析和批次查看，使用分子离子和碎片离子的精确质量以及同位素模式匹配实现高度可靠的化合物鉴定。

在 390 种目标化合物中，在正离子化模式下检出 315 种化合物，在负离子化模式下检出 75 种化合物。通过直接将 100 μL 水进样至 UHPLC Q-TOF MS 系统，加标自来水样品中 60% 以上的化合物可以在 10 ng/L 或更低的浓度下定量。另外 35% 的化合物在 10–100 ng/L 的浓度范围内被检出，而仅有 5% 的化合物在 200 ng/L 或更高的浓度下被检出。对于大多数目标化合物，可使用一种或多种特定的碎片离子作为定性离子，并且分子离子和碎片离子的质量准确度通常优于 5 ppm。图 2 显示了重点污染物 (EU) 列表和 US EPA 方法 1694 中一些实例的提取离子色谱图、质谱峰谱图和校准曲线。

针对污水处理厂出水中的样品使用此靶向筛查方法能够对几 ng/L 至若干 μg/L 的浓度范围内的各种环境污染物进行（半）定量分析。所发现药物残留物主要存在于大型污水处理厂 (AG、AL、AZ) 的出水中，这些污水处理厂均接纳约 50000 人口当量的废水，而 AI 接纳了约 7100 人口当量的废水。在所有污水处理厂出水中，鉴定出 X 射线造影剂的估计浓度为：碘美普尔浓度高达 7 μg/L，碘普罗胺浓度高达 2 μg/L。其他常见药物包括氨碘必利（高达



500 ng/L)、阿替洛尔(高达 1.7 μg/L)、美托洛尔(高达 470 ng/L)和曲马多(高达 2 μg/L)以及卡马西平、双氯芬酸、布洛芬、萘普生和磺胺甲恶唑。对卡马西平、磺胺甲恶唑和安乃近的代谢物进行了鉴定。在污水处理厂出水中共鉴定出 33 种药物及其代谢物。正如预料的,在 AZ 出水中发现的上述化合物的数量最多,该污水厂存在城市集水区。然而, AI 出水中的浓度最高,可能是由于该污水厂采用的简单处理方法的污染物去除效率有限。

在所有污水处理厂出水中,共检出 46 种农药。在所有污水处理厂中均检出浓度为 14-770 ng/L 的杀虫剂避蚊胺(DEET)。另外所有污水处理厂样品中还存在除草剂异丙草胺(高达 1.1 μg/L)和异丙隆(高达 450 ng/L)。在 AI 出水中发现的农药的数量最多,该污水厂的集水区主要为农业集水区。其中生长的主要作物包括谷物、蔬菜、玉米、甜菜和土豆。在该污水处理厂的出水中最常发现且浓度最高的农药包括啉菌酯、氟噻草胺、利谷隆、苯嗪草酮、灭多威、嗪草酮、霜霉威、螺环菌胺和特丁津。所有这些农药主要用于上文所列的作物。

图 3 显示了污水处理厂 AI 出水样品中的抗癫痫药物卡马西平和农药啉菌酯的归一化色谱图,其中涵盖了从三月到六月底所采集的样品。尽管药物浓度在整个采样期间基本恒定,但是农药浓度随生长期而增加。此实例表明与在特定时间段进入水循环的化合物相比,连续引入的化合物具有不同的污染物图谱。

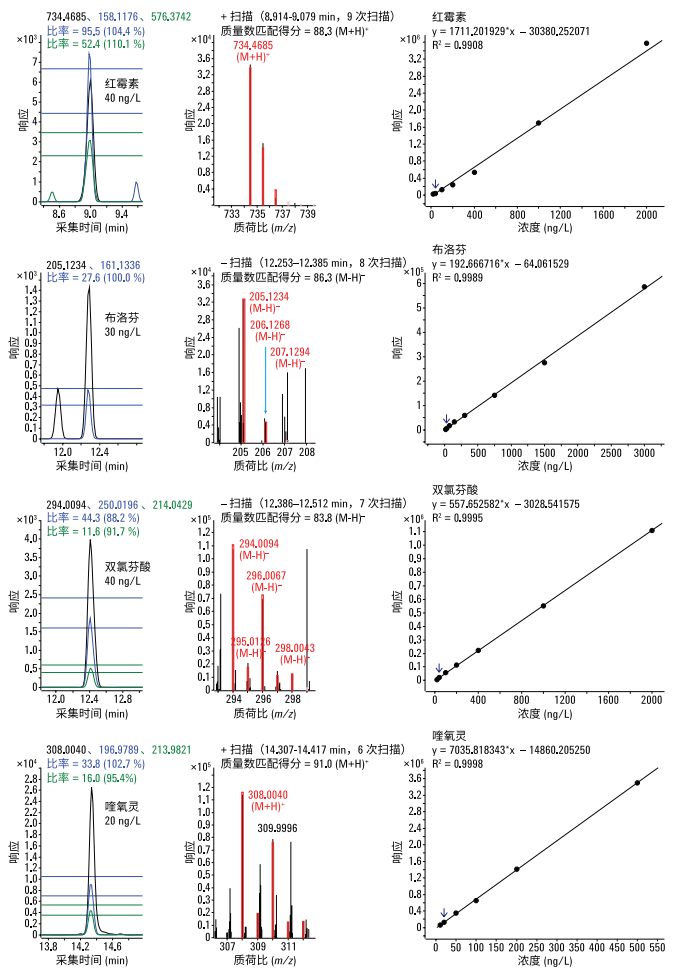


图 2. 红霉素(正离子化模式)、布洛芬(负离子化模式)、双氯芬酸(负离子化模式)和左氧氟星(正离子化模式)的分子离子和碎片离子的 EIC 色谱图、质谱峰谱图以及校准曲线

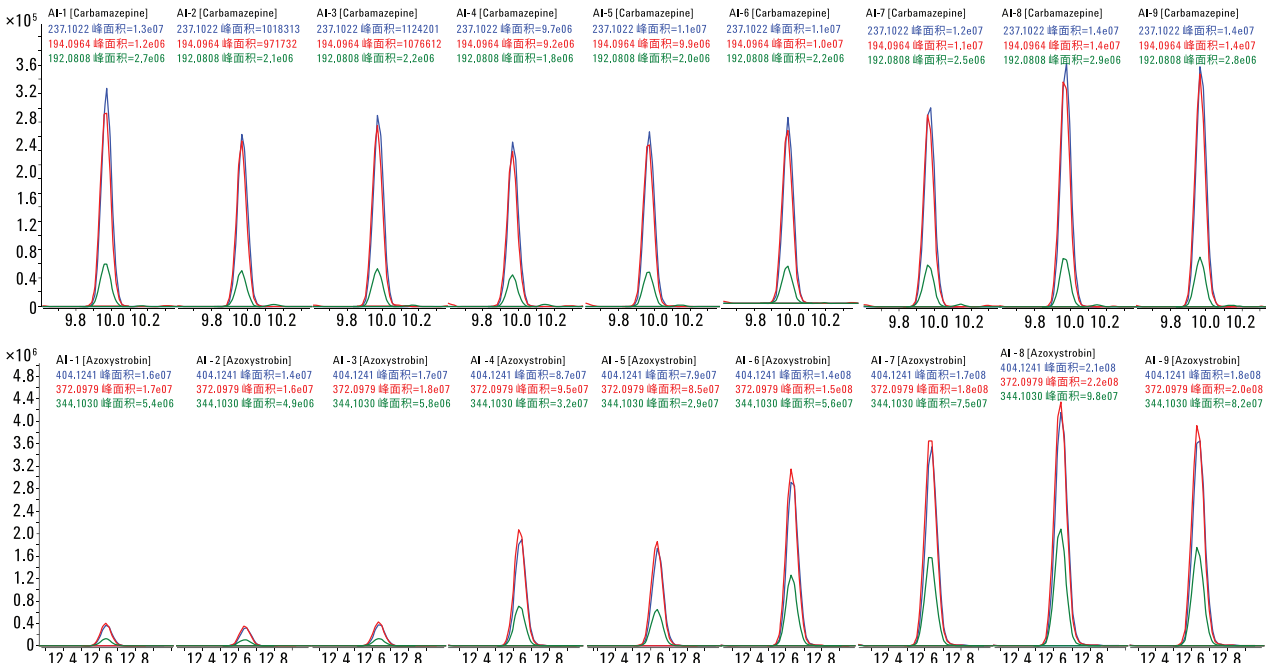


图 3. 采样期间(三月到六月底)得到的抗癫痫药物卡马西平和农药啉菌酯的分子离子和碎片离子的归一化 EIC 色谱图

## 使用全面的 Agilent MassHunter 水质筛查 PCDL 进行广泛的疑似污染物筛查

基于靶向筛查的结果，选择污水处理厂 AI 和 AZ 的样品进行广泛的疑似污染物筛查，寻找包括在水质筛查 PCDL 中所有的剩余化合物。精确质量 MS/MS 信息的可获得性对于鉴定潜在的候选物至关重要，可在全离子 MS/MS 工作流程中用于提取和校准分子离子和特征碎片离子的 EIC，或用于将采集的精确质量 MS/MS 谱图与 PCDL 中的参比谱图进行谱库匹配。图 4 显示了在鉴定污水处理厂出水中的一些污染物实例时所使用的两种工作流程。

### 全离子 MS/MS 筛查工作流程

在全离子 MS/MS 工作流程中，无需低能量通道中的碎裂即可采集到精确质量数据。几乎同时使用两个高能量通道，在非常快速的序列步骤中采用两种不同的碰撞能量将化合物碎裂，无需进行母离子选择，且两个通道下的精确质量碎片数据均被记录。采用分子式查找算法分析数据时，水质筛查 PCDL 提供了母离子分子式信息，并提取所有指定的离子形态的化合物色谱图。在推断的鉴定中，对于 PCDL 中储存的 MS/MS 谱图中指定数量的丰度最高的碎片离子，其色谱图从高能量通道中自动提取。例如，图 4A 显示了水质筛查 PCDL 中缬沙坦的精确质量谱库谱图，并与污水处理厂 AI 出水样品中高能量干净谱图（图 4B）进行了比较。红色三角形指示出从谱库谱图中选择的碎片离子，以便进行评估。

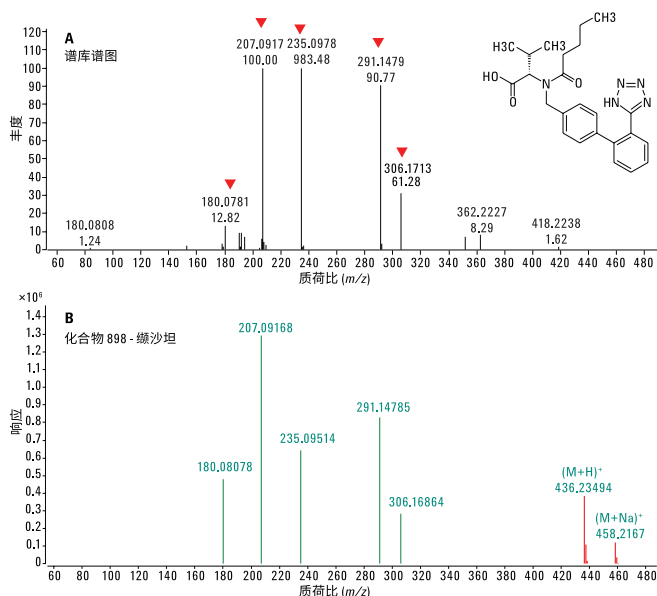


图 4. 在 20 V 碰撞能量下得到的缬沙坦的精确质量谱库谱图 (A) 与污水处理厂 AI 的出水样品中采集的高能量谱图 (干净谱图) (B) 的对比。谱库谱图 (A) 中的红色三角形表示自动选择用于全离子 MS/MS 评估的离子

尽管谱库谱图基于 20 V 的碰撞能量，但高能量干净谱图中结合了 20 V 和 40 V 下两个高能量通道采集到的信息。

通过叠加母离子和碎片离子的色谱图并计算共流得分对血管紧张素受体阻滞剂 (ARB) 缬沙坦的鉴定结果进行确证。共流得分需要考虑丰度、峰形 (对称性)、峰宽和保留时间等因素。对归一化强度比率进行绘图，以使用户在共流出曲线中进行检查。图 5A 显示了高能量通道下得到的分子离子色谱图与碎片离子色谱图的叠加图。所有五个碎片离子色谱图均表明与母离子共流出。这一现象还体现在图 5B 的共流出曲线中。详细的化合物鉴定结果 (包括共流出得分) 如图 5C 的化合物表格所示。

当分子离子的 EIC 和至少一个或两个碎片离子表现出完美的共流出时，可实现高度可靠的鉴定，具体体现为共流出得分 > 90 (满分 100)，并且分子离子和碎片离子的峰谱图的质量准确度优于 5 ppm。根据这一规则，在污水处理厂 AI 的出水中鉴定出其他药物，即血管紧张素受体阻滞剂坎地沙坦、厄贝沙坦和氯沙坦。

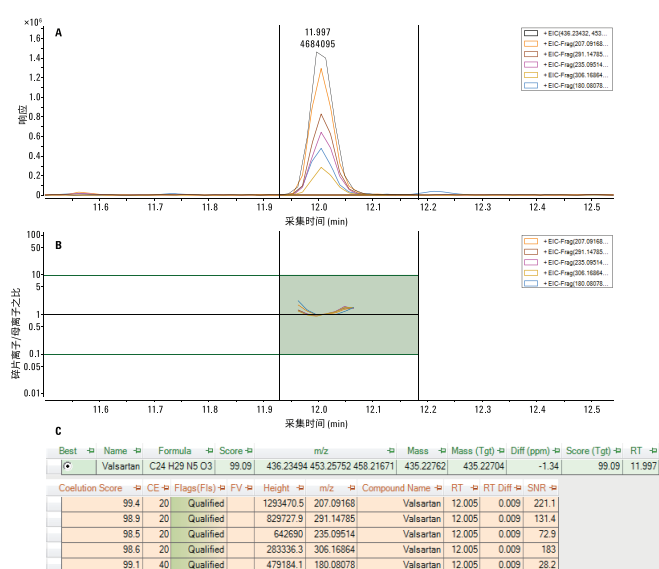


图 5. 污水处理厂 AI 的出水样品中缬沙坦的母离子和碎片离子的叠加谱图 (A)、共流出曲线 (B) 以及包括共流出得分的化合物鉴定结果 (C)

还鉴定出在之前工作流程中 (使用参比标样的靶向筛查) 未检出的其他药物和个人护理用品，包括甲红霉素、非索非那定、西他列汀、塞利洛尔和苯基苯并咪唑磺酸等化合物。此外，还检出九种其他农药 (敌草胺、啞霉胺、咪唑菌酮、环草定、二甲吩草胺、啞酰菌胺、地乐酚、咯菌腈和戊菌唑) 以及全氟辛酸 (PFOA) 和几种有机磷酸酯 (磷酸三乙酯、磷酸三 (2-氯乙基) 酯、磷酸三丁酯和磷酸三苯酯)。在 AZ 样品中，检出了缬沙坦、坎地沙坦、厄贝沙坦以及非索非那定、甲红霉素、文拉法辛及其代谢物去甲基文拉法辛、西酞普兰、西替利嗪、氯吡格雷和利托那韦。除 PFOA 以外，还检出全氟壬酸。在污水处理厂 AZ 的出水中未检出和确认出更多农药。

## 使用靶向 MS/MS 进行疑似污染物筛查和验证

通过将精确质量 MS/MS 谱图与精确质量 MS/MS 谱库进行匹配来验证化合物，有时比全离子 MS/MS 工作流程更具优势。这种情况适用于以下情形：如果污染物仅以痕量浓度存在，从而碎片离子的信号强度较低，或者如果在低质量数碎片离子和基质离子之间发生干扰。此外，在母离子分离后进行精确质量 MS/MS 谱库对比被视为化合物验证的金标。在没有谱库可用的情况下，例如，对于最新鉴定出的化合物或疑似转化产物而言，可以在 MassHunter 分子结构关联 (MSC) 软件上对精确质量 MS/MS 谱图与化合物的理论碎裂进行比较。

通常，该工作流程从全离子 MS/MS 采集发现运行开始，使用分子式查找数据挖掘算法与碎片离子确认对疑似化合物进行初步鉴定。在无法鉴定出碎片离子或者仅检出一个非特定碎片离子的情况下，从 MassHunter 定性分析软件中选择化合物并将其导入目标物列表中。在使用相同色谱分析的连续运行中，采集目标母离子的精确质量 MS/MS 谱图。如果需要极高的灵敏度，则对于发现运行，在 TOF 模式下操作 Q-TOF 可能是有利的。使用 TOF 模式可获得更多数量的疑似污染物，从而在连续靶向 MS/MS 或自动 MS/MS 运行中获得更多的母离子质量数。然而，在此情况下，将检出更多的低丰度污染物。靶向 MS/MS 和自动 MS/MS 运行的数据分析从使用 MS/MS (靶向或自动) 特征查找算法进行数据挖掘开始，然后使用 MassHunter 水质筛查 PCDL 进行谱库搜索。

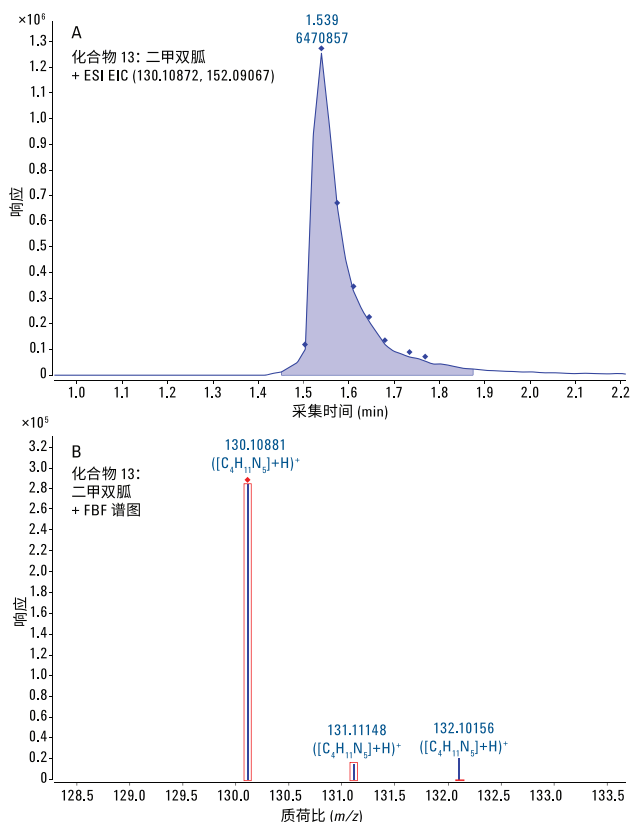


图 6. 通过分子式查找算法所获得的污水处理厂 AZ 出水中降糖药二甲双胍的化合物色谱图和干净的峰谱图

图 6 显示了在污水处理厂 AZ 出水中发现的降糖药二甲双胍的化合物色谱图和 MS1 级峰谱图。由于该化合物的分子离子的质量数低，且特定碎片离子的质量数更低，因此在全离子 MS/MS 工作流程中无法验证该化合物，但是利用靶向 MS/MS 方法能够实现可靠的鉴定。二甲双胍的主要离子形态为  $[M+H]^+$ ，并且测得的  $m/z$  与计算得到的质量数具有很好的一致性 (-0.7 ppm)。质量信号周围的红色框显示预期的同位素比。测得的单一同位素质量信号和  $[M+1]$  同位素信号的强度与理论模式具有非常好的一致性。然而， $[M+2]$  信号存在干扰，因此目标得分仅为 72.7 (满分 100)。

图 6 中的红色菱形指示出已采集到特定  $m/z$  所对应的 MS/MS 谱图。在峰范围内自动提取 MS/MS 谱图，并与 MassHunter 水质筛查 PCDL 中所包含的谱库谱图进行匹配。图 7 显示了在污水处理厂出水 (7A) 中采集的二甲双胍的 MS/MS 谱图与 PCDL 中谱库谱图 (7C) 的比较。不同谱图的镜像显示如图 7B 所示。二甲双胍的谱库谱图中列出的所有主要碎片离子均在所测得的谱图中找到，且质量数提取窗口很窄，并且在 20 V 的碰撞能量下与参比谱图具有相似的比率。因此，对精确质量谱库进行反向搜索得到的得分为 95.4 (满分 100)，验证了在样品中存在二甲双胍。实现验证需要 MS/MS 得分高于 60。

图 8 显示了可使用靶向 MS/MS 工作流程进行验证的其他化合物示例。在 AZ 出水中检出三聚氰胺，其谱库得分为 85.3。其具有若干工业用途，是农药环丙氨嗪的代谢物。在 AI 出水中检出苯甲地那铵，其谱库得分为 91.5。这是已知最苦的化合物，在个人护理用品中用作苦味剂以免意外摄入。

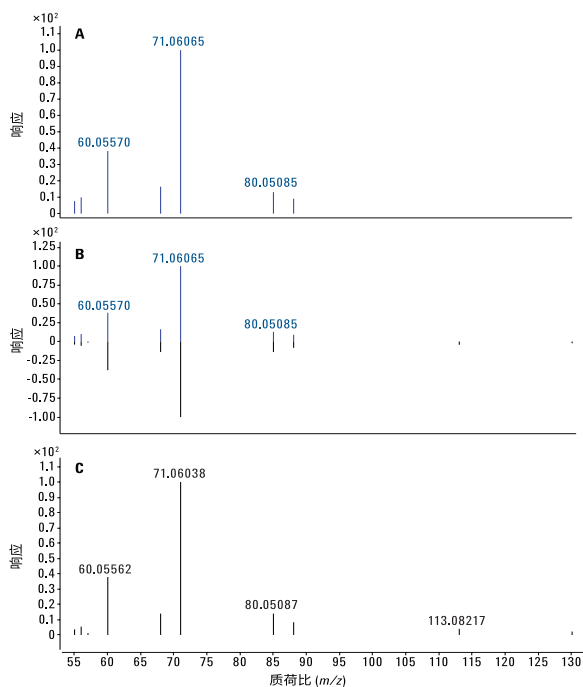


图 7. 在污水处理厂出水样品中测得的二甲双胍的谱图 (A) 与 Agilent MassHunter 水质筛查 PCDL 的参比谱图 (C) 以及差异谱图的镜像显示 (B) 的比较

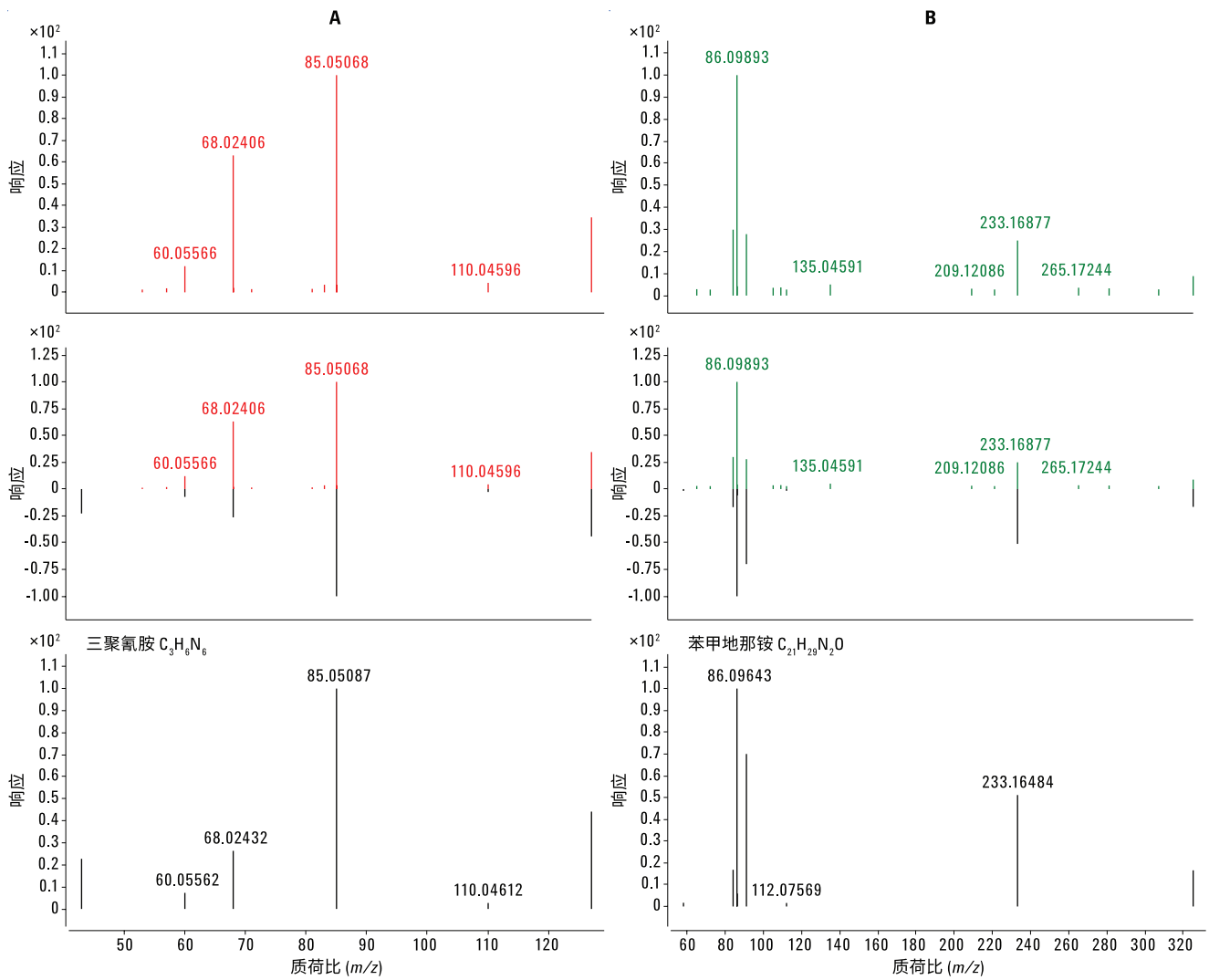


图 8. 利用 Agilent MassHunter 水质筛查 PCDL 的参比 MS/MS 谱图测得的污水处理厂出水样品 AZ 中三聚氰胺的谱图 (A) 和出水样品 AI 中苯甲地那铵的谱图 (B) 的对比

# 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

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  $\mu$ L Agilent HP-0921 和 200  $\mu$ 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<sup>[1]</sup>，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 <sub>18</sub> H <sub>26</sub> O	258.19837
卡马西平	298-46-4	C <sub>15</sub> H <sub>12</sub> N <sub>2</sub> O	236.09496
DEET/避蚊胺	134-62-3	C <sub>12</sub> H <sub>17</sub> NO	191.13101
双氯芬酸	15307-86-5	C <sub>14</sub> H <sub>11</sub> Cl <sub>2</sub> NO <sub>2</sub>	295.01668
二氢茉莉酸甲酯	24851-98-7	C <sub>13</sub> H <sub>22</sub> O <sub>3</sub>	226.15690
依法韦仑	154635-17-3	C <sub>14</sub> H <sub>6</sub> ClF <sub>3</sub> NO <sub>2</sub>	315.02739
氟尼辛	38677-85-9	C <sub>18</sub> H <sub>11</sub> F <sub>3</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	296.07726
氟西汀	54910-89-3	C <sub>17</sub> H <sub>18</sub> F <sub>3</sub> NO	309.13405
氟伏沙明	54739-18-3	C <sub>15</sub> H <sub>21</sub> F <sub>3</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	318.15551
拉莫三嗪	84057-84-1	C <sub>9</sub> H <sub>7</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>5</sub>	255.00785
甲芬那酸	61-68-7	C <sub>15</sub> H <sub>15</sub> NO <sub>2</sub>	241.11028
美托洛尔	37350-58-6	C <sub>15</sub> H <sub>25</sub> NO <sub>3</sub>	267.18344
咪康唑	22916-47-8	C <sub>18</sub> H <sub>14</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>2</sub> O	413.98602
甲基炔诺酮	797-63-7	C <sub>21</sub> H <sub>28</sub> O <sub>2</sub>	312.20893
磺胺甲恶唑	723-46-6	C <sub>10</sub> H <sub>11</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub> S	253.05211
三氯卡班	101-20-2	C <sub>13</sub> H <sub>9</sub> Cl <sub>3</sub> N <sub>2</sub> O	313.97805
甲氧苄啶	738-70-5	C <sub>14</sub> H <sub>18</sub> N <sub>4</sub> O	290.13789
雌酮 (E1)	53-16-7	C <sub>18</sub> H <sub>22</sub> O <sub>2</sub>	270.16198
炔雌醇 (EE2)	57-63-6	C <sub>20</sub> H <sub>24</sub> O <sub>2</sub>	296.17763
2-苯基苯酚 (邻苯基苯酚)	90-43-7	C <sub>12</sub> H <sub>10</sub> O	170.07316
吉非罗齐	25812-30-0	C <sub>15</sub> H <sub>22</sub> O <sub>3</sub>	250.15689
雌三醇	50-27-1	C <sub>18</sub> H <sub>24</sub> O <sub>3</sub>	288.17254
4-叔-辛基酚 (4-(1,1,3,3-四甲基丁基)-苯酚)	140-66-9	C <sub>14</sub> H <sub>22</sub> 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 $\mu$ L 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 $\times$ 100 mm, 1.9 $\mu$ m (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。

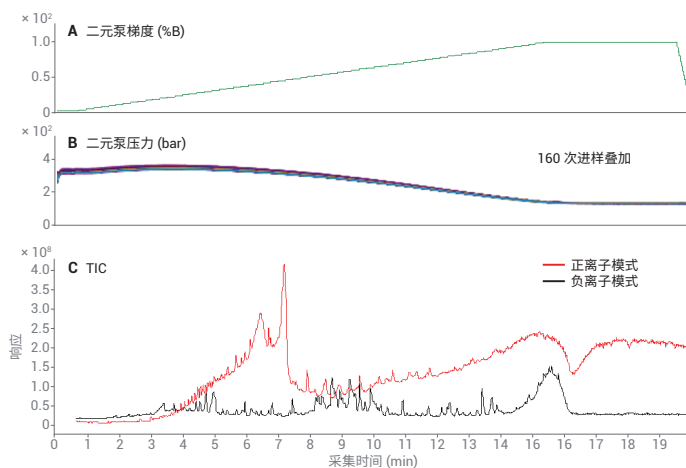


图 1. 污水污泥进样至 1290 Infinity II 液相色谱系统得到的色谱结果



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) <sup>+</sup> 嘌呤加合物 922.009798 (M+H) <sup>+</sup> HP-0921 加合物	119.03632 (M-H) <sup>-</sup> 嘌呤加合物 940.001473 (M+F) <sup>-</sup> HP-0921 加合物

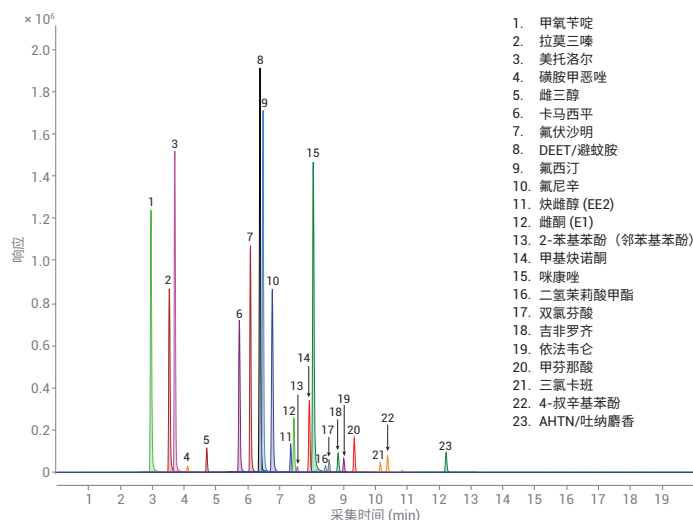


图 2. 表 1 中定义的目标化合物的提取离子色谱图

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

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<sup>[3]</sup> 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<sup>[4]</sup>。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<sup>[5]</sup> 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。

水质筛查分析仪 PCDL 目录

总化合物 = 1451 种

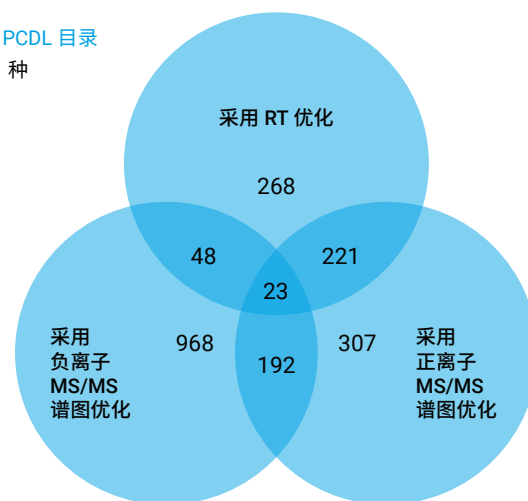


图 4. 水质筛查个人化合物数据库和谱库内容



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。

## 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  $S/N \geq 3$ 。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) <sup>+</sup>	> 0.99	5.0	1000
卡马西平	(M+H) <sup>+</sup>	> 0.99	1.0	250
DEET/避蚊胺	(M+H) <sup>+</sup>	> 0.99	0.50	500
双氯芬酸	(M+H) <sup>+</sup>	> 0.99	25	> 1000
二氢茉莉酸甲酯	(M+H) <sup>+</sup>	> 0.99	50	> 1000
依法韦仑	(M+H) <sup>+</sup>	> 0.99	5.0	> 1000
氟尼辛	(M+H) <sup>+</sup>	> 0.99	0.50	2500
氟西汀	(M+H) <sup>+</sup>	> 0.99	0.50	> 1000
氟伏沙明	(M+H) <sup>+</sup>	> 0.99	1.0	> 1000
拉莫三嗪	(M+H) <sup>+</sup>	> 0.99	0.10	100
甲芬那酸	(M+H) <sup>+</sup>	> 0.99	5.0	> 1000
美托洛尔	(M+H) <sup>+</sup>	> 0.99	0.50	> 1000
咪康唑	(M+H) <sup>+</sup>	> 0.99	0.50	500
甲基炔诺酮	(M+H) <sup>+</sup>	> 0.99	2.5	750
磺胺甲恶唑	(M+H) <sup>+</sup>	> 0.99	50	> 1000
三氯卡班	(M+H) <sup>+</sup>	> 0.99	50	> 1000
甲氧苄啶	(M+H) <sup>+</sup>	> 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

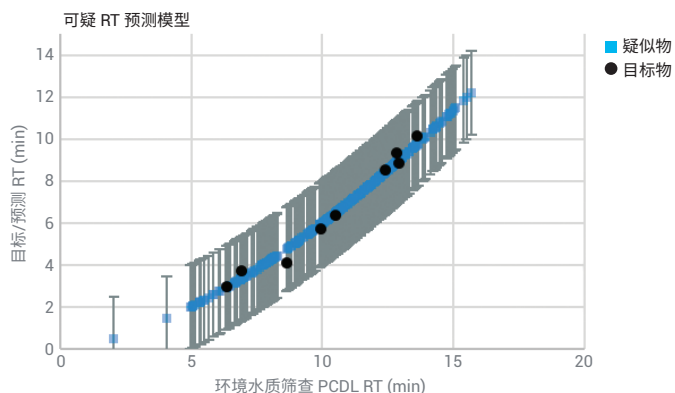


图 5. 不同分析方法之间相同的替代物保留时间相关性

在大多数情况下，当拟合的线性曲线包含 1000 ppb 校准样品时，未观察到 LOS。但是，当化合物拟合非线性曲线回归（加权  $1/x$ ，其中  $x$  为浓度）时，除了拉莫三嗪（一种基本有效电离的化合物）之外，进样 0.5  $\mu\text{L}$  时，其他所有化合物均可包含更高的校准点以准确定量浓度高达 1000 ppb 的化合物。图 6 所示为本分析中目标化合物的校准曲线。

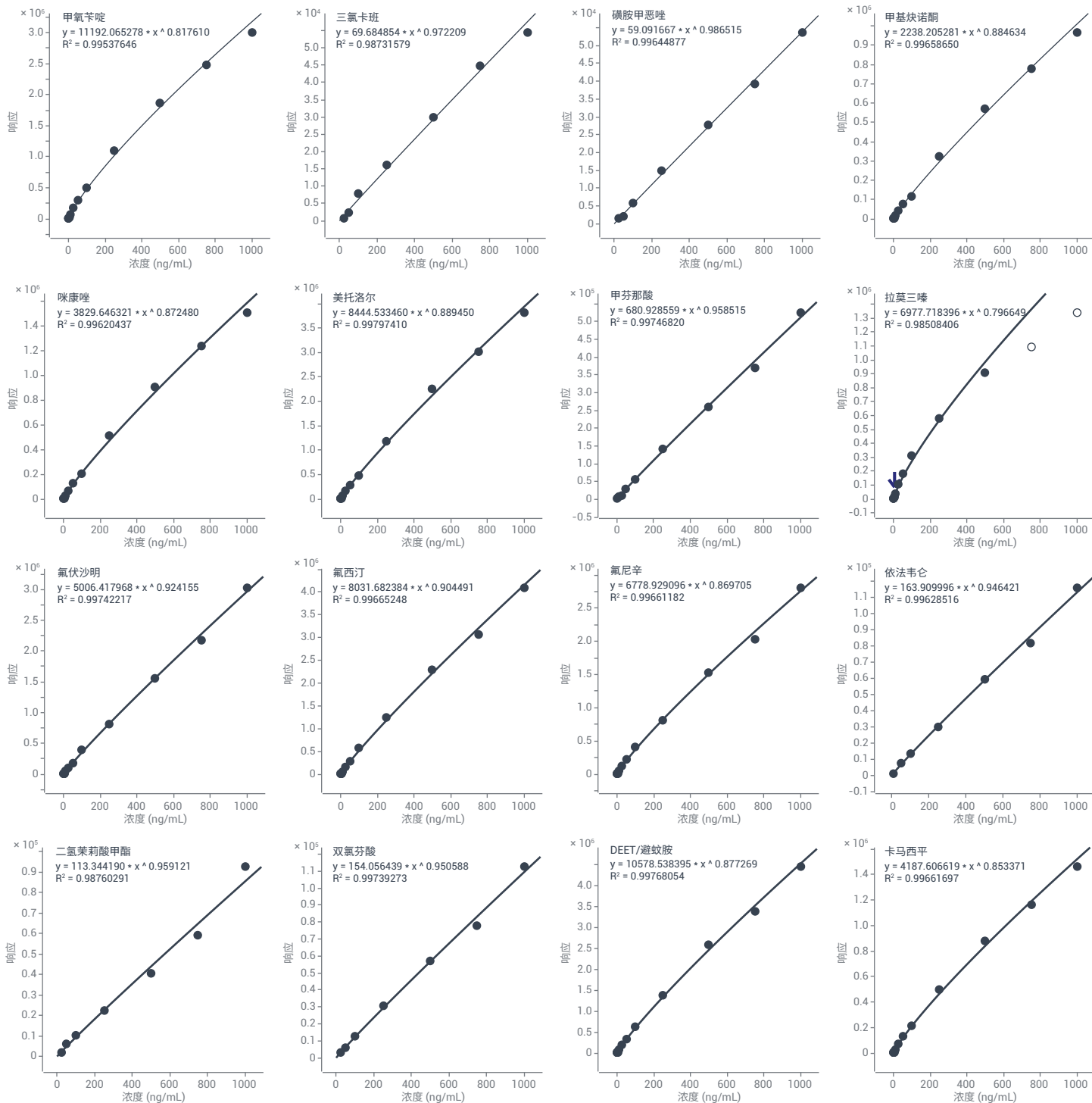


图 6. 目标化合物的校准曲线

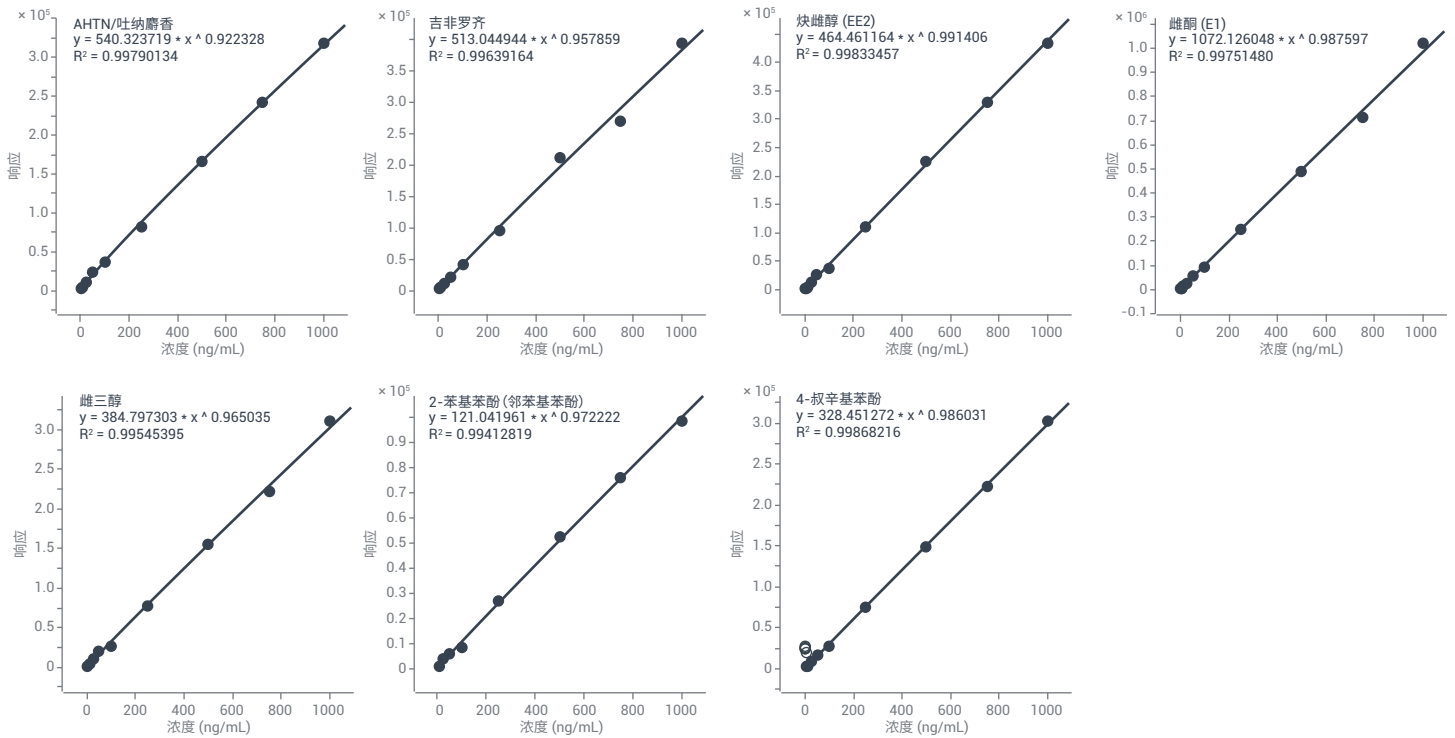


图 6. 目标化合物的校准曲线 (续)

对于拉莫三嗪, 未观察到检出限 (LLOD), 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  $\mu$ L, 因此 100 ppb 的浓度相当于柱上进样 100 pg。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。

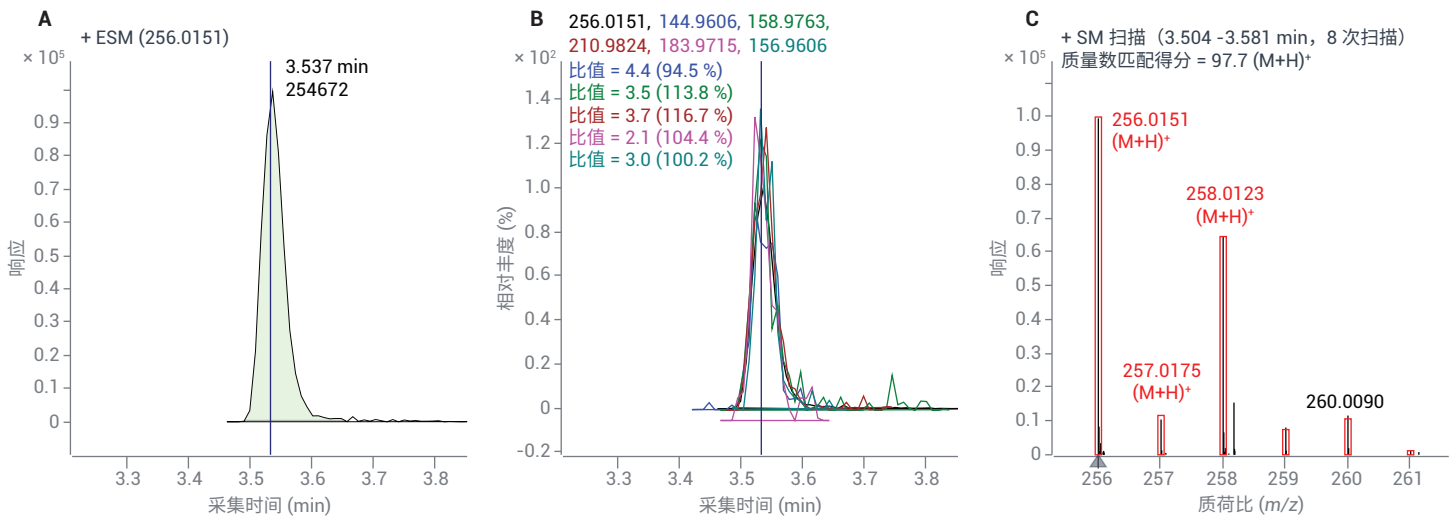


图 7. 500 ppb 加标污水污泥中的拉莫三嗪结果

## 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<sup>[2]</sup> 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。

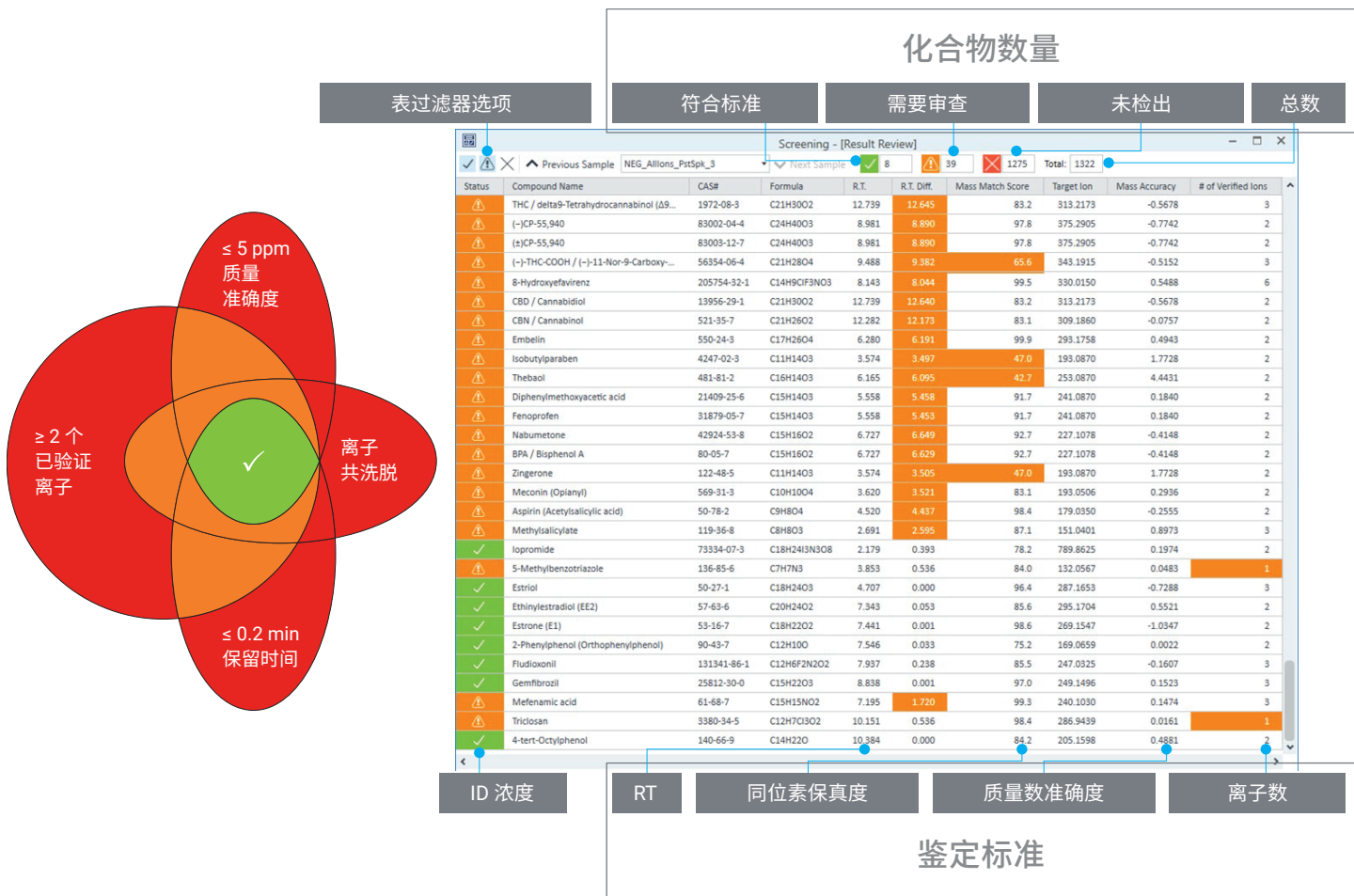


图 8. 显示推断鉴定可疑化合物所用标准的 LC Screener 工具

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-Hydroxyfavirenz	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	
!	Fenoprofen	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	
!	Isoproturon	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	C12H4Cl2F6N4OS	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

查找当地的安捷伦客户中心：

[www.agilent.com/chem/contactus-cn](http://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](mailto:LSCA-China_800@agilent.com)

在线询价：

[www.agilent.com/chem/erfq-cn](http://www.agilent.com/chem/erfq-cn)



微信搜一搜

安捷伦视界

[www.agilent.com](http://www.agilent.com)

DE62275594

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，2023

2023年7月7日，中国出版

5994-6534ZH-CN

