

使用在线 SPE LC/MS 检测饮用水中痕量级的碱性和酸性农药与除草剂

应用简报

环境

作者

Dan-Hui Dorothy Yang
安捷伦科技有限公司
Santa Clara, California, USA

Edgar Naegele
安捷伦科技有限公司
Waldbronn, Germany

摘要

本应用简报演示了 Agilent 1200 Infinity 系列在线 SPE 解决方案与 Agilent 6460 三重四极杆质谱系统联用，在正和负 MS 离子化模式下，测定饮用水中的亚 ppt 级碱性和酸性农药与除草剂。该方法详细描述了分析碱性和酸性农药与除草剂的起始条件，可通过适用的安捷伦 LC/MS 农药应用工具包对方法进行设置和验证。此外，通过线性、定量限 (LOQ)、检测限 (LOD)、保留时间的相对标准偏差 (RSD)、面积 RSD 和回收率证明了系统性能。



Agilent Technologies

前言

饮用水中农药和除草剂的存在对人类健康和环境构成了重大威胁。因此，市政供水系统中这些物质的浓度受到政府机构的监管，监管力度低至 ppt 级¹。各种各样的分析物性质、低分析物浓度和多变的水基质组成为分析带来了重大挑战。

我们使用 1200 Infinity 系列在线 SPE 解决方案与 6460 三重四极杆质谱系统，对饮用水中 ppt 或亚 ppt 级的碱性和酸性农药与除草剂同时进行定量分析。这一灵活的系统集成了上样泵和可互换定量环毛细管，两个用于分析物富集的交替捕集柱支持大进样体积（高达 1800 μL ）²。

另外，直接进行柱上进样的系统之所以拥有诸多优势，是因为管路和配置的物理变化不是必需条件，而且这种变化可以在方法中实现³。

实验部分

仪器

Agilent 1200 Infinity 系列在线 SPE 解决方案

- Agilent 1260 Infinity 二元泵 (G1312B)，配有外部脱气机 (G4225A) 和 LAN 卡 (G1369C)
- Agilent 1260 Infinity 标准自动进样器 (G1329B)，配有 900 μL 计量头 (G1313-60007) 和样品冷却装置 (G1330B)
- 带两个阀驱动的 Agilent 1290 Infinity Flexible Cube (G4227A)，配有在线 SPE 启动装置 (G4742A) 以及带 2 位/10 通 1200 Infinity 系列 Quick-Change 快速更换阀 (600 bar) 与相应毛细管的在线 SPE 直接进样工具包 (G4744A)
- Agilent 1260 Infinity 柱温箱 (G1316C)

采用直接进样的 HPLC 方法

Agilent 1260 Infinity 二元泵	
溶剂 A 和 B	见在线 SPE 方法
流速	0.4 mL/min
梯度	0 min 时 B 为 2%， 5 min 时 B 为 2%， 11 min 时 B 为 95%， 12.50 min 时 B 为 95%， 12.60 min 时 B 为 2% 停止时间：17 min 后运行时间：6 min
Agilent 1290 Infinity 柱温箱	
柱温	40 °C
Agilent 1290 Infinity Flexible Cube	
右阀	2 位/10 通 Quick-Change 快速更换阀头，未使用
左阀	2 位/10 通 Quick-Change 快速更换阀头，位于分析柱的直接进样位置
Agilent 1260 Infinity 标准自动进样器	
进样量	900 μL
样品瓶（甲醇）中的注射针清洗	
抽取和推出速度	1000 $\mu\text{L}/\text{min}$
样品温度	8 °C
两个 15 位样品盘（见采用在线 SPE 的 HPLC 方法）	
6 mL 螺口盖样品瓶（见采用在线 SPE 的 HPLC 方法）	

质谱检测器

采用安捷伦喷射流技术的 Agilent 6460 三重四极杆 LC/MS 系统

分析柱

Agilent ZORBAX Eclipse Plus C18, 2.1 \times 150 mm, 3.5 μm (部件号 959763-902)

捕集柱 (G4742A 中的部件)

- 两个保护柱卡套 (部件号 820999-901)
- Agilent PLRP-S 柱, 2.1 \times 12.5 mm, 15-20 μm (部件号 5982-1271)

软件

- Agilent MassHunter 数据采集软件，版本 06.00
- Agilent MassHunter Optimizer 软件，版本 06.00
- Agilent MassHunter 定性分析软件，版本 06.00
- Agilent MassHunter 定量分析软件，版本 05.02

采用在线 SPE 的 HPLC 方法

Agilent 1260 Infinity 二元泵

溶剂 A 水, 5 mM 甲酸铵 + 0.1% 甲酸
(负离子化模式下无甲酸铵)

溶剂 B 乙腈 + 0.1% 甲酸

流速 0.4 mL/min

梯度 0 min 时 B 为 2%,
5 min 时 B 为 2%,
11 min 时 B 为 95%,
12.50 min 时 B 为 95%,
12.6 min 时 B 为 2%
停止时间: 17 min
后运行时间: 6 min

Agilent 1260 Infinity 柱温箱

柱温 40 °C

Agilent 1290 Infinity Flexible Cube

右阀 2 位/10 通 Quick-Change 快速更换阀头, 进行 SPE 捕集柱之间的切换

左阀 2 位/10 通 Quick-Change 快速更换阀头, 位于 SPE 捕集柱上样的位置

泵速 1.0 mL/min

溶剂 A1 0.1% 甲酸水溶液

溶剂 B2 乙腈

梯度 0 min – 泵 4 mL, 溶剂 A1
4 min – 右阀更换位置
5 min – 泵 4 mL, 溶剂 B2
10 min – 泵 7 mL, 溶剂 A1

Agilent 1260 Infinity 标准自动进样器

进样量 900 µL

样品瓶 (甲醇) 中的注射针清洗

抽取和推出速度 1000 µL/min

样品温度 8 °C

两个 15 位样品盘 (G1313-44513)

6 mL 螺口盖样品瓶 (玻璃, 部件号 9301-1377), 螺口盖 (部件号 9301-1379), 6 mL 螺口盖样品瓶预开口隔垫 (部件号 5188-2758)

采用安捷伦喷射流离子热梯度聚焦技术的正离子化模式下的三重四极杆质谱方法

干燥气温度 250 °C

干燥气流速 7 L/min

雾化器压力 40 psi

鞘气温度 325 °C

鞘气流速 11 L/min

毛细管电压 3500 V

喷嘴电压 0 V

MS2 分辨率 单位

采用安捷伦喷射流离子热梯度聚焦技术的负离子化模式下的三重四极杆质谱方法

干燥气温度 325 °C

干燥气流速 9 L/min

雾化器压力 35 psi

鞘气温度 350 °C

鞘气流速 12 L/min

毛细管电压 4000 V

喷嘴电压 500 V

MS2 分辨率 宽

Agilent 1290 Infinity Flexible Cube 的管路和使用^{2,3}

在具备直接进样功能的 1200 Infinity 系列在线 SPE 解决方案配置中, 1290 Infinity Flexible Cube 配备了两个 2 位/10 通阀。两根捕集柱位于右阀。左阀则用于直接柱上进样和 SPE 捕集柱进样之间的切换 (图 1A)。

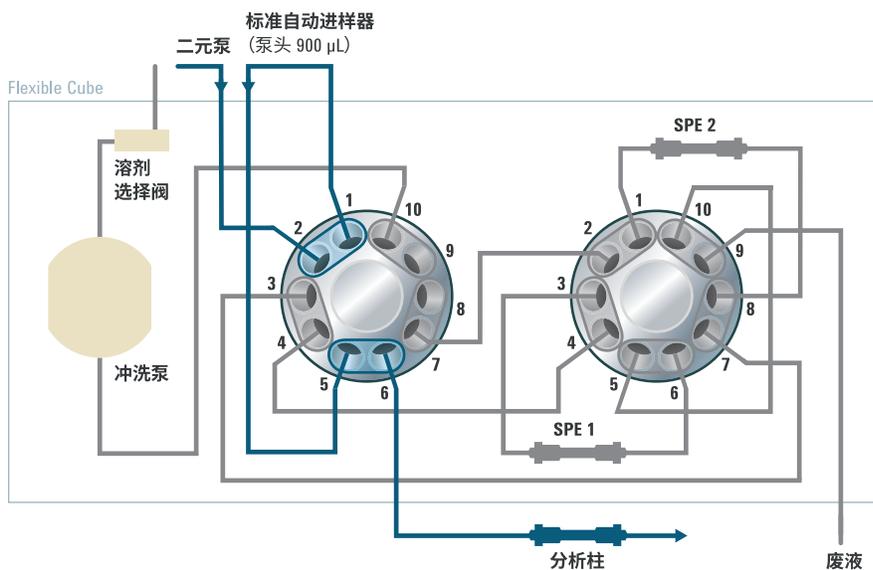


图 1A. Agilent 1290 Infinity Flexible Cube 模块配置图, 显示了直接柱上进样和 SPE 捕集柱进样之间切换的管路连接。分析柱直接进样时, Agilent 1260 Infinity 二元泵与 Agilent 1260 Infinity 自动进样器和用于直接进样的分析柱相连 (左阀处、蓝色流路、灰色线路表示未使用的管路)

另外，1290 Infinity Flexible Cube 还包括活塞泵和溶剂选择阀，用于捕集柱上样品的冲洗以及捕集柱的重新平衡（图 1B 和图 1C）。可以选择三种溶剂分别用于上样、清洗和平衡。如果选中了一个将样品上样至其中一根 SPE 色谱柱中的阀位，则 1290 Infinity Flexible Cube 内的活塞泵将与 1260 Infinity 标准自动进样器连接。样品将直接冲洗到一根捕集柱（SPE 1）上。另一根捕集柱（SPE 2）与分析泵连接，并在反冲模式下将样品洗脱至分析柱（图 1B）。捕集柱上样完成后，切换右侧的 2 位/10 通阀。这样，捕集柱的流路即完成交换（图 1C）。液相泵开始泵送梯度溶剂，将捕集柱（SPE 1）上富集的分析物洗脱至分析柱。同时，前一次运行中洗脱的捕集柱（SPE 2）进一步得到清洗和再平衡。溶剂选择阀选取合适的清洗溶剂并通过 1290 Infinity Flexible Cube 的活塞泵完成清洗程序。

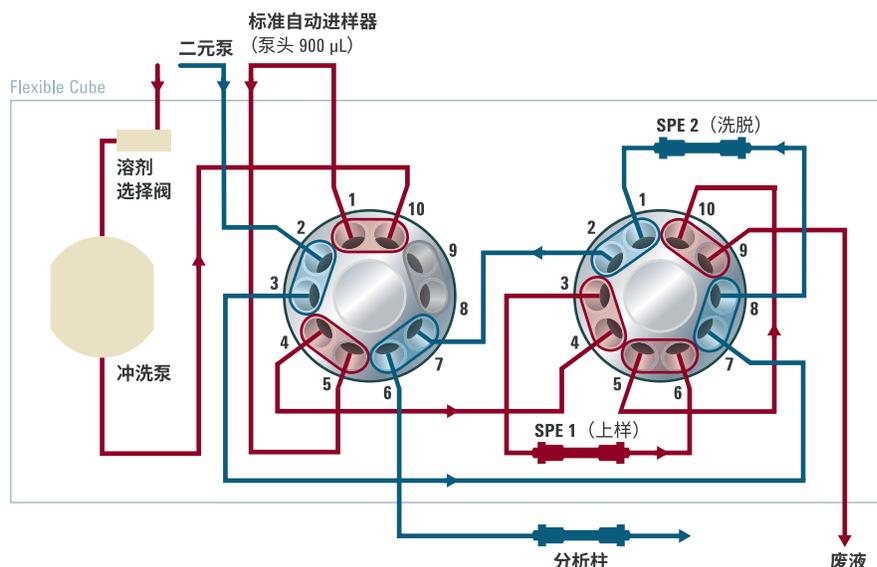


图 1B. Agilent 1290 Infinity Flexible Cube 模块配置图，显示了直接柱上进样和 SPE 捕集柱进样之间切换的管路连接。Agilent 1260 Infinity 二元泵与左阀、捕集柱（SPE 2）和分析柱相连（左阀处，蓝色流路）。分析开始阶段，活塞泵将样品从自动进样器送入捕集柱 SPE 1（红色流路）

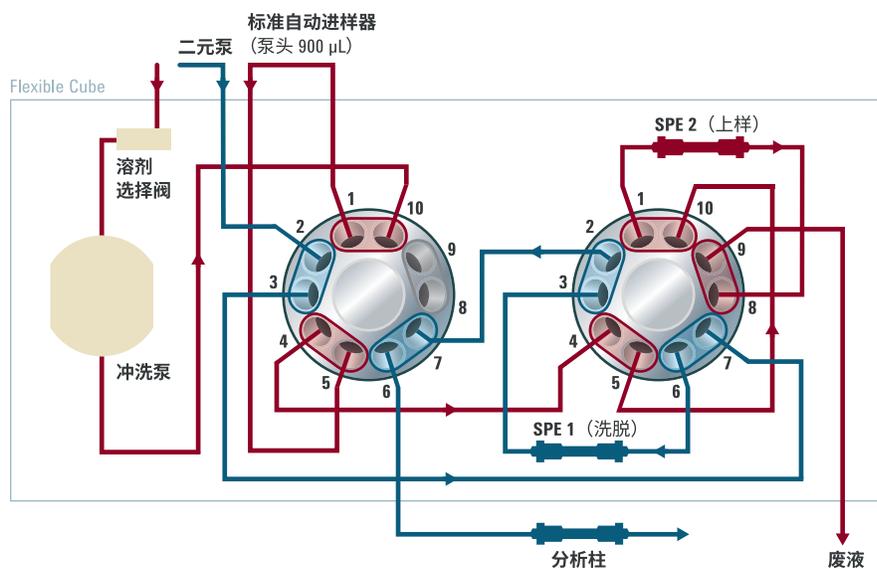


图 1C. Agilent 1290 Infinity Flexible Cube 模块配置图，显示了直接柱上进样和 SPE 捕集柱进样之间切换的管路连接。SPE 进样时，Agilent 1260 Infinity 二元泵与左阀、捕集柱和分析柱相连（左阀处，蓝色流路）。SPE 1 上样后，切换右阀，使 SPE 1 捕集柱位于分析柱之前（蓝色流路）。此时，SPE 2 进行清洗和平衡，为下次进样做准备（红色流路）

MRM 方法

表 1 和表 2 显示了在正负离子化模式下，各种农药和除草剂定量和定性离子的最佳碎裂电压、碰撞能量值、驻留时间和碰撞池加速器电压。

使用 MassHunter Optimizer 软件开发 MRM 三重四极杆 MS 方法，开发时，将每种农药标准溶液 (1 mg/L, 1 ppm) 流动注射至质谱仪中。优化完成后可确定每种化合物生成相应定性和定量离子的最佳碎裂电压以及最佳碰撞能量。

化学品

所有溶剂均为 LC/MS 级。乙腈购自美国的 Honeywell。新制超纯水产自配置 LC-Pak Polisher 和 0.22 μm 膜式终端过滤器 (Millipak) 的 Milli-Q Integral 水纯化系统。

标样

安捷伦农药测试混标 (部件号 5190-0469) 含有 14 种碱性除草剂和 6 种酸性除草剂，其中每种化合物均为 100 ppm 储备液。用乙腈将其稀释为 1 ppm 的工作溶液，最终用自来水稀释至指定浓度。

表 1. 在正离子化模式下，各种农药和除草剂定量和定性离子的最佳碎裂电压、碰撞能量 (CE) 值、驻留时间和碰撞池加速器电压

化合物名称	母离子	子离子	碎裂电压 (V)	CE (V)	驻留时间 (ms)	池加速电压 (V)
磺草唑胺	418.02	175	140	32	5	3
磺草唑胺	418.02	140	140	60	5	3
唑菌胺酯	388.11	193.8	95	8	5	2
唑菌胺酯	388.11	163.1	95	20	5	2
马拉硫磷	331	126.9	80	5	5	2
马拉硫磷	331	99	80	10	5	2
二嗪农 (敌匹硫磷)	305.1	169.1	105	32	5	2
二嗪农 (敌匹硫磷)	305.1	97	105	40	5	2
抑霉唑 (恩康唑)	297.1	201	115	15	5	2
抑霉唑 (恩康唑)	297.1	159	115	20	5	2
吡唑草胺	278.1	210.1	70	4	5	5
吡唑草胺	278.1	134.2	70	15	5	5
灭草烟	262.1	217.1	120	20	5	3
灭草烟	262.1	69.1	120	40	5	3
乐果	230	198.8	70	0	5	5
乐果	230	125	70	16	5	5
甲氧隆	229	72.1	95	16	5	3
甲氧隆	229	46.1	95	12	5	3
克百威	222.1	165.1	80	20	5	2
克百威	222.1	123.1	80	30	5	2
莠去津	216.1	174.1	125	16	5	3
莠去津	216.1	68	125	40	5	3
灭害威	209.1	152.2	105	12	5	2
灭害威	209.1	137.2	105	24	5	2
噻菌灵	202	175	130	24	5	2
噻菌灵	202	131	130	36	5	2
草达灭	188	126.1	90	25	5	2
草达灭	188	83.2	90	16	5	2

表 2. 在负离子化模式下，各种农药和除草剂定量和定性离子的最佳碎裂电压、碰撞能量 (CE) 值、驻留时间和碰撞池加速器电压

化合物名称	母离子	子离子	碎裂电压 (V)	CE (V)	驻留时间 (ms)	池加速电压 (V)
氟铃脲	461	158	120	15	15	2
氟铃脲	461	141	120	45	15	2
三氟羧草醚	359.99	316	60	5	15	2
三氟羧草醚	359.99	286	60	5	15	2
2,4,5-TP (三氯苯氧丙酸)	266.94	194.9	80	12	15	2
2,4,5-TP (三氯苯氧丙酸)	266.94	158.9	80	30	15	2
2,4,5-T	254.9	196.9	70	15	15	2
2,4,5-T	252.9	194.9	70	10	15	2
苯达松	239.1	197	75	20	15	5
苯达松	239.1	132	75	24	15	5
地乐酚	239.07	209	120	25	15	2
地乐酚	239.07	163	120	25	15	2

结果与讨论

碱性农药与除草剂

对于碱性农药和除草剂的混合物，用自来水将储备溶液稀释至 100 ppt，以模拟饮用水基质。用自来水将这种溶液配制 10 个校准浓度（100、50、20、10、5、2、1、0.5、0.2 和 0.1 ppt）。在给定的条件下测量这些校准标样，并绘制校准曲线。所有校准曲线的 R^2 值通常均高于 0.9990（表 3）。50 ppt 级的所有 MRM 信号叠加图如图 2 所示。利用信噪比 (S/N) 高于 10 的最低校准点计算 LOQ。所有碱性农药和除草剂的 LOQ 均在个位数 ppt 范围内，14 种化合物中的大多数处于亚 ppt 范围内。在信噪比为 3 的前提下计算 LOD。除抑霉唑和草达灭外，所有 LOD 均处于亚 ppt 范围内。为了确定 SPE 柱上捕集过程的回收率，分别将相同体积的 10 ppt 溶液直接进样到分析柱和 SPE 捕集柱上。回收率通常高于 80%。对于碱性农药和除草剂，将 100 ppt 溶液进样至捕集柱上后再进样空白，即可确定交叉污染的存在。以莠去津测定的最大交叉污染为 0.005%（图 3）。

表 3. 碱性农药与除草剂测试混标中固有的 14 种化合物的结果。根据本文所述的在线 SPE LC/MS 方法得到的 R^2 、LOD、LOQ、保留时间 RSD、峰面积 RSD 和回收率测定值

化合物名称	保留时间 (min)	保留时间 RSD (%)	峰面积 RSD (%)	R^2	LOQ (ppt)	LOD (ppt)	回收率 (%)
灭害威	7.298	0.03	8.42	0.9996	0.125	0.038	96
噻菌灵	7.704	0.02	15.40	0.9970	0.273	0.081	98
灭草烟	8.237	0.05	7.18	0.9990	0.666	0.200	67
乐果	8.756	0.02	7.88	0.9992	0.666	0.200	84
抑霉唑 (恩康唑)	9.032	0.02	7.83	0.9990	5.000	2.000	82
甲氧隆	9.186	0.04	8.30	0.9998	0.150	0.053	93
克百威	9.749	0.03	6.62	0.9995	0.200	0.050	71
磺草唑胺	9.857	0.03	5.78	0.9990	0.500	0.200	81
莠去津	9.986	0.04	8.31	0.9995	0.050	0.015	75
吡啶草胺	10.258	0.05	5.94	0.9990	0.410	0.046	79
草达灭	10.960	0.05	10.72	0.9980	5.000	2.000	56
马拉硫磷	11.021	0.04	9.53	0.9990	1.750	0.400	69
啶菌胺酯	11.543	0.05	8.83	0.9960	1.000	0.500	88
二嗪农 (敌匹硫磷)	11.633	0.05	6.33	0.9975	4.166	0.125	89

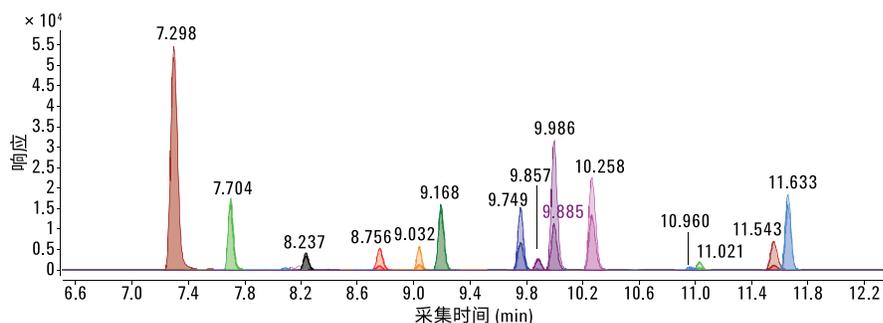


图 2. 碱性除草剂混合物中固有的 50 ppt 浓度的所有化合物的色谱图，显示了定量和定性离子 MRM 信号的叠加，化合物名称和保留时间如表 3 所示

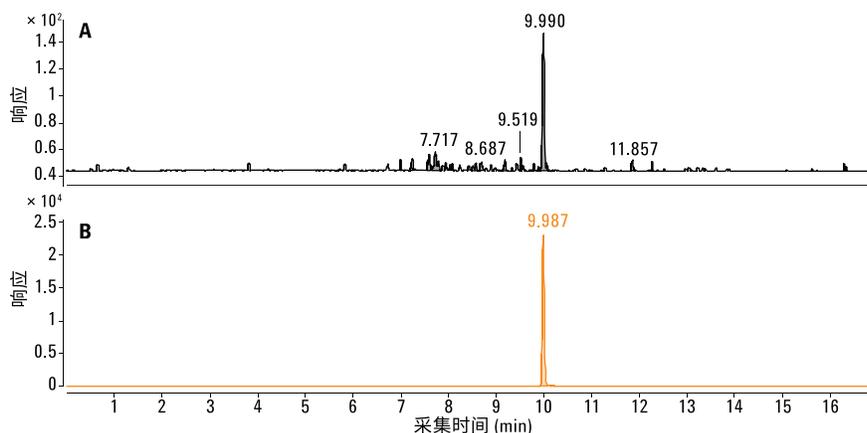


图 3. 进样 100 ppt 溶液 (B) 之后进样空白 (A) 来测定交叉污染。测得莠去津的交叉污染为 0.005%，而所有其他化合物的交叉污染较低或无法检出

酸性农药与除草剂

对于酸性农药和除草剂，采用与碱性农药和除草剂相同的稀释模式稀释至 10 ppt 的浓度，并以 2 ppb 作为起点绘制校准曲线。LOQ 和 LOD 的计算值通常在个位数 ppt 范围内，例如，苯达松得到了 0.25 ppt 的 LOQ 以及 0.08 ppt 的 LOD (表 4)。高氟化合物氟铃脲是一个例外，其 LOQ 为 100 ppt，LOD 为 50 ppt。所有低浓度溶液均表现出无线性或非线性响应。这是由于样品粘附到了玻璃样品瓶的瓶壁上。在稀释溶剂中加入有机溶剂或使用硅烷化玻璃样品瓶即可解决此问题（不在本文讨论之列）。所有校准曲线的 R^2 值通常均高于 0.9990。图 4 显示了 1 ppb 和 50 ppt 定量离子和定性离子的叠加色谱图。

将浓度为 1 ppb 的溶液重复进样 10 次，根据所得结果计算峰面积和保留时间 RSD。面积 RSD 通常低于 5%，保留时间 RSD 始终低于 0.03% (表 4)。

通过比较浓度为 1 ppb 的样品的直接进样结果与 SPE 柱上进样结果确定回收率。回收率通常等于或略高于 100%。表观回收率高的原因是这些酸性化合物对 C18 色谱柱的亲性和性差，但对 PLRP-S 柱却具有更好的亲和性。利用 900 μL 的直接进样方式有可能会使 C18 分析柱上发生分析物损失。在分析前对样品酸化或使用对酸性化合物具有更高亲和性的色谱柱，可以有效避免这一问题（不在本文讨论之列）。

进样浓度为 10 ppb 的溶液后再进样空白，即可确定交叉污染的存在。在本实验中，苯达松交叉污染最高，约为 0.003%。

表 4. 酸性农药与除草剂测试混标中固有的 6 种化合物的结果。根据本文所述的在线 SPE LC/MS 方法得到的 R^2 、LOD、LOQ、保留时间 RSD、峰面积 RSD 和回收率测定值

化合物名称	保留时间 (min)	保留时间 RSD (%)	峰面积 RSD (%)	R^2	LOQ (ppt)	LOD (ppt)	回收率 (%)
苯达松	9.662	0.03	1.04	0.9959	0.25	0.08	194
2,4,5-T	10.223	0.03	2.20	0.9995	6.8	2.0	106
2,4,5-TP (三氯苯氧丙酸)	10.606	0.02	4.85	0.9996	5.13	1.54	115
三氟羧草醚	10.639	0.00	5.58	0.9993	10.3	3.1	109
地乐酚	11.398	0.02	1.41	0.9991	3.84	1.15	135
氟铃脲	11.501	0.02	7.04	0.9995	100	50	96

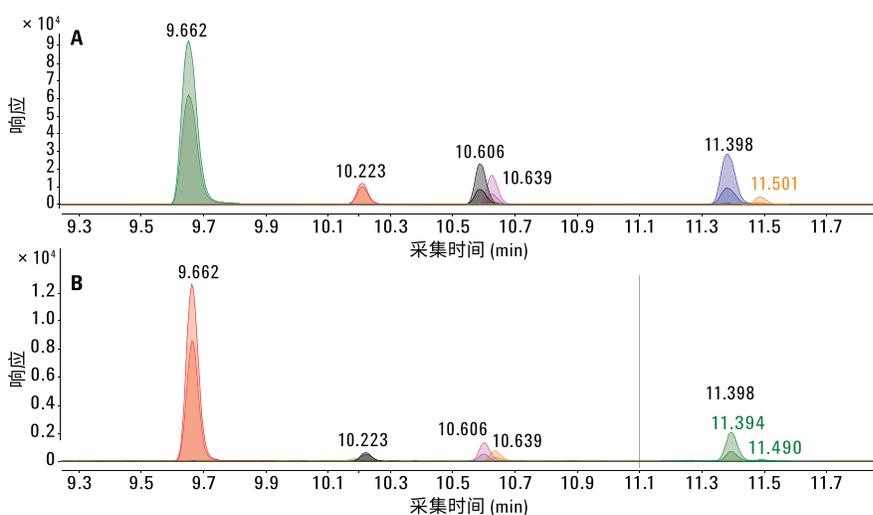


图 4. A) 1 ppb 和 B) 50 ppt 浓度的酸性除草剂混合物的色谱图，显示定量和定性离子 MRM 信号的叠加，化合物名称和保留时间如表 4 所示

结论

本应用简报介绍了通过在线 SPE LC/三重四极杆质谱系统分析碱性和酸性农药与除草剂，并为用于含这两类化合物的试剂盒提供了适用的起始方法。实验证明了两类化合物的性能。所有化合物均获得优异的线性，LOQ 通常在个位数 ppt 浓度内，LOD 通常在亚 ppt 范围内。应用的在线 SPE 方法具有优异的峰面积 RSD、保留时间 RSD 和回收率。

参考文献

1. 欧盟饮用水指令 98/83/EC
http://ec.europa.eu/environment/water/water-drink/index_en.html
2. Quantification of trace-level herbicides in drinking water by online enrichment with the Agilent 1200 Infinity Series Online-SPE Solution and Triple Quadrupole MS Detection (Agilent 1200 Infinity 系列在线 SPE 解决方案联用三重四极杆质谱仪实现在线 SPE 富集以定量检测饮用水中的痕量除草剂)，*安捷伦应用简报*，**2013**，出版号 5991-1738EN
3. Naegele, E., 使用 LC/MS 分别通过直接进样和在线 SPE 进行水中痕量除草剂定量分析的比较研究，*安捷伦应用简报*，**2013**，出版号 5991-2140CHCN

查找当地的安捷伦客户中心：

www.agilent.com/chem/contactus-cn

免费专线：

800-820-3278, 400-820-3278 (手机用户)

联系我们：

LSCA-China_800@agilent.com

在线询价：

www.agilent.com/chem/erfq-cn

www.agilent.com

本文中的信息、说明和指标如有变更，恕不另行通知。

© 安捷伦科技（中国）有限公司，2014
2014 年 4 月 1 日，中国出版
5991-4177CHCN



Agilent Technologies