

在 Agilent 6490 三重四极杆 LC/MS 系统上使用快速直接进样的 LC/MS/MS 方法鉴定排放污水中的一组 20 种指示物

应用简报

环境

作者

Shimin Wu、
Mauricius Marques dos Santos、
Kevin Daniels 和 Shane Snyder
化学与环境工程系
BI05 研究院
亚利桑那大学
Tucson, AZ, USA

Tarun Anumol
安捷伦科技公司
Wilmington, DE, USA

摘要

使用一种检测污水中痕量有机化合物的快速 LC/MS/MS 方法，采用 80 μ L 进样量的水样直接进样方式，鉴定排放污水中一组 20 种指示物的存在情况。分析周期小于 14 分钟，多数指示物的方法报告限 (MRL) 为 3-39 ng/L。多数指示物的基质效应均小于 30%，20 种指示物中有 19 种的日内和日间变异系数 < 5%。



Agilent Technologies

前言

世界各地排放的污水中含有多种痕量有机化合物 (TOrc), 包括药物、农药、工业化合物和个人护理用品。实施水循环再利用方案时会涉及处理过的污水, 期间有可能将 TOrc 排入饮用水源, 形成污染途径。这种污染已由美国的几项研究得到证实 [1]。随着淡水资源的减少, 这一问题只会更加恶化, 每天都有几千种新的化学物质引入环境中。

虽然已知一些 TOrc 对野生动物和人类的健康有不良影响, 但长期接触饮用水中这些化合物的低浓度混合物会有何种风险, 尚属未知。不过, 在水源中考虑到 TOrc 的数量庞大并且还在不断增加, 监测其中的每一种 TOrc 是不现实的。我们需要的是一个能够标志饮用水中污水污染物存在情况的指示物列表。可以根据存在频率、风险评估、对环境条件的影响和污水处理效果等因素对潜在的指示物进行评价。

本应用简报总结了一项已发表的研究, 依据关于美国排放污水检测频率和存在浓度的文献综述, 确定一个可行指示物列表 [1], 然后对四家污水处理厂进行监测研究, 以验证该列表的实用性。

常规 TOrc 分析通常需要进行费时费力的提取和浓缩步骤, 这会延长分析周期时间并降低重现性。本研究使用的方法, 是在高效液相色谱/串联质谱 (HPLC/MS/MS) 系统上进行直接大体积进样, 免去提取步骤, 从而优化重现性并缩短分析时间。所需的样品体积仍然很小, 无需采集大体积样品, 也减少了同位素标记替代标准品的用量 (与成本)。具有快速极性切换和动态 MRM 的 Agilent 6490 三重四极杆 LC/MS 系统可以同时使用正负电离, 能够快速优化全部 20 种化合物的采集参数, 并将分析周期缩短至 13 分钟。

这种方法能够鉴定 20 种 TOrc, 其中所有化合物都在四家污水处理厂中的至少三家检出一次以上。有一些化合物存在于所有待分析样品中, 并且浓度足够高, 稀释后仍然可以在饮用水中检测到。

实验部分

试剂与标准品

所有试剂和标准品均按文献 [1] 所述方式获得。使用同位素标记替代标准品 (ILSS) 确定基质效应。

仪器

使用配备 100 μ L 进样针定量环的 Agilent 1260 Infinity HPLC 泵进行分析。将色谱柱 (Agilent Pursuit XRs C-8, 100 \times 2.0 mm, 3 μ m) 与 Agilent 6490 三重四极杆 LC/MS 系统联用。使用 Agilent Source Optimizer 功能对系统运行条件进行优化, 如表 1 所示。

样品采集与前处理

在一年的四个不同时期, 随机采集来自四家不同污水处理厂的排放污水样品。所有样品均在上午 8 时到 10 时之间采集, 以避免昼夜变化带来的影响。分别加入抗坏血酸和叠氮化钠作为淬灭剂和微生物生长抑制剂。每个样品取 1 mL, 加入 2 μ g/L ILSS 混合物, 经安捷伦 0.2 μ m 聚醚砜 (PES) 针头过滤器注入自动进样器样品瓶进行分析。

表 1. HPLC 和 MS 仪器条件

HPLC 条件			MS 条件		
分析柱	Agilent Pursuit XR _s C-8, 100 × 2.0 mm, 3 μm (部件号 A6011100X020)		采集参数	ESI 模式, 通过快速极性切换同时进行正负电离; 动态 MRM	
进样量	80 μL		延迟时间	0.5 min	
柱温	30 °C			ESI 正离子模式	ESI 负离子模式
流动相	A) 0.1 % (v/v) 甲酸水溶液 B) 乙腈		鞘气温度	350 °C	350 °C
运行时间	11.5 min + 1.5 min 后运行时间 = 13 min 分析周期		鞘气流速	11 L/min	11 L/min
流速	0.4 mL/min		干燥气温度	275 °C	275 °C
梯度	时间 (min)	%B	干燥气流速	18 L/min	18 L/min
	0	2	雾化器压力	45 psig	45 psig
	1.5	2	喷嘴电压	1500 V	0 V
	8	60	毛细管电压	3000 V	3000 V
	10.5	100	高压 RF	150 V	90 V
	11.5	2	低压 RF	60 V	60 V
后运行时间	1.5 min		Δ EMV	400 V	400 V

分析参数

表 2 显示由指示物列表选出的 20 种化合物及其替代内标的多反应监测 (MRM) 离子对。

表 2. MRM ESI 分析参数

化合物	保留时间 (min)	母离子 (<i>m/z</i>)	子离子 (<i>m/z</i>)	碎裂电压 (V)	碰撞能量 (V)	ESI 模式
安赛蜜	5.2	162	82.1	380	13	负
安赛蜜-d ₄	5.2	166.1	86.1	380	10	负
阿替洛尔	4.2	267.1	190.1	380	15	正
			145	380	20	正
阿替洛尔-d ₇	4.2	274	190.1	380	15	正
咖啡因	5.4	195.1	138	380	24	正
			110.1	380	16	正
咖啡因- ¹³ C ₃	5.4	198.1	140	380	16	正
卡马西平	8.0	237	194	380	15	正
			179	380	35	正
卡马西平-d ₁₀	8.0	247	204	380	15	正
避蚊胺 (DEET)	8.8	192	119	380	15	正
			91	380	30	正
DEET-d ₆	8.8	198	119	380	15	正
双氯芬酸	10.3	294	250	380	4	负
			214	380	16	负
苯海拉明	6.5	256.2	167.1	380	4	正
			165.1	380	44	正
苯海拉明-d ₅	6.5	261.2	172.1	380	4	正

化合物	保留时间 (min)	母离子 (m/z)	子离子 (m/z)	碰撞能量 (V)	ESI 模式
吉非罗齐	10.8	249.2	121	6	负
吉非罗齐-d ₆	10.8	255	121	6	负
氢氯噻嗪	6.0	296	268.9	10	负
			204.7	15	负
碘海醇	4.2	821.9	803.8	20	负
碘普罗胺	4.8	791.8	572.8	22	正
			558.8	28	正
碘帕醇-d ₃	2.3	781	562	22	正
眠尔通	7.0	219	158	5	正
			55	20	正
眠尔通-d ₃	7.0	222.1	161.1	5	正
扑米酮	6.3	219.3	162.1	9	正
			91.1	25	正
三氯蔗糖	5.9	419	239	15	正
			221	15	正
三氯蔗糖-d ₆	5.9	425	243	15	正
磺胺甲恶唑	7.1	254	156	10	正
			92	30	正
磺胺甲恶唑- ¹³ C ₆	7.1	260	162	10	正
TCEP	9.0	285	223	10	正
TCEP-d ₁₂	8.6	297	232	13	正
TCPP	9.8	327	99	16	正
			81	70	正
三氯卡班	11.0	313	160	5	负
			126	25	负
三氯卡班- ¹³ C ₆	11.0	318.9	160	5	负
三氯生	11.1	289	37	5	负
			287	5	负
三氯生- ¹³ C ₁₂	11.1	299	35	5	负
甲氧苄啶	5.1	291	261	25	正
			230	25	正
甲氧苄啶-d ₃	5.1	294	264	25	正

结果与讨论

指示物选择

根据对美国研究的文献检索，使用优先评分系统 (PSS) 对 48 种 TorC 的潜在指示物列表进行了组合和评估。评分的依据是研究中的检出频率 (DF)、平均浓度 (存在浓度) 以及在排放污水中检出化合物的相关研究数量 (研究数量)。三项标准每项最高得分为 3 分，这样化合物能够得到的最高 PSS 为 9 分。仅在得分 > 6 的化合物中选择，选出 20 种候选指示物，如图 3 所示。

表 3. 从美国研究文献综述中选出的 20 种指示物

化合物	得分			合计
	DF*	存在浓度†	研究数量‡	
安赛蜜	3	3	1	7
阿替洛尔	3	3	2	8
咖啡因	1	3	3	7
卡马西平	3	1	3	7
DEET	3	3	3	9
双氯芬酸	2	2	3	7
苯海拉明	3	3	1	7
吉非罗齐	2	2	3	7
氢氯噻嗪	3	3	1	7
碘海醇	3	3	1	7
碘普罗胺	3	2	2	7
眠尔通	3	2	2	7
扑米酮	3	2	2	7
三氯蔗糖	3	3	2	8
磺胺甲恶唑	3	3	3	9
TCEP	3	2	2	7
TCPP	3	3	2	8
三氯卡班	3	2	2	7
三氯生	3	1	3	7
甲氧苄啶	3	1	3	7

* 美国研究中的 DF (检出频率)：1 (51%–70%)，2 (71%–85%)，3 (> 85%)

† 存在浓度得分 (基于平均浓度)：1 (51–200 ng/L)，2 (201–500 ng/L)，3 (> 500 ng/L)

‡ 研究得分 (基于研究数量)：1 (2–4)，2 (5–9)，3 (> 9)

方法性能

按照文献 [1] 所述方式确定每种分析物的方法报告限 (MRL) 和仪器定量限 (LOQ)，如表 4 所示。除三氯蔗糖外，20 种化合物的 MRL 分布在 3-37 ng/L 的范围之间 (表 4)。虽然三氯蔗糖的 MRL 相对较高 (302 ng/L)，但排放污水中检测到的含量也高出数倍。20 种化合物中大多数的 LOQ < 20 ng/L，范围在 2-100 ng/L 之间 (表 4)。

表 4. 20 种指示物的 MRL 和 LOQ

指示物	MRL (ng/L)	LOQ (ng/L)
安赛蜜	4	5
阿替洛尔	37	20
咖啡因	8	5
卡马西平	3	2
DEET	34*	10
双氯芬酸	14	10
苯海拉明	7	5
吉非罗齐	23	50
氢氯噻嗪	15	10
碘海醇	13	10
碘普罗胺	39	20
眠尔通	8	10
扑米酮	9	10
三氯蔗糖	302	100
磺胺甲恶唑	5	5
TCEP	20	20
TCPP	22*	10
三氯卡班	14	10
三氯生	15	10
甲氧苄啶	11	5

* 由于仪器污染程度低，MRL 调整为空白浓度的 2 倍

本研究测定了两家污水处理厂 (WWTP) 的排放污水中所有 20 种指示物在 1000 ng/L 和 5000 ng/L 浓度下的加标回收率。除三氯蔗糖 (WWTP 1 在 5000 ng/L 下 67%) 和碘海醇 (WWTP 1 在 1000 ng/L 下 46%) 外, 两家 WWTP 在两种加标浓度下的回收率均在 83%-138% 之间。WWTP 1 排放污水中三氯蔗糖和碘海醇的浓度比低加标浓度高 20 倍, 这可能是它们回收率较低的原因。加标回收率测量结果的精密度良好, 20 种化合物中的大多数在每种加标浓度下和每家 WWTP 污水中的相对标准偏差 (RSD) 均 < 5%。

利用排放污水中加标同位素标记替代标准品 (ILSS) 的峰面积与超纯水中加标相同 ILSS 的峰面积之比确定排放污水

中的基质效应。虽然结果表明碘化 X 射线造影剂碘海醇、碘帕醇和碘普罗胺的抑制效应较高 (最高达到 60%), 但 20 种指示物中的大多数在污水中基质效应 < 30% (图 1)。污水基质会增强安赛蜜和三氯蔗糖的信号, 而对其他 18 种化合物则表现出基质抑制作用。

提取刚过每种化合物的 MRL 值并延伸至 10 $\mu\text{g/L}$ 的校准曲线, 20 种指示物中有 15 种的相关系数 (R^2) > 0.995, 而所有指示物的 R^2 值均 > 0.99 (表 5)。使用每种化合物的标准品测定 2 $\mu\text{g/L}$ 浓度下的定量精密度, 日内测定的相对标准偏差 (RSD) 均 < 5% (表 5)。在 20 种化合物中, 有 14 种化合物的日间 RSD < 5%, 除磷酸三(2-氯乙基)酯 (TCEP, 14%) 和三氯蔗糖 (12%) 外, 所有化合物的日间 RSD 均 < 10%。

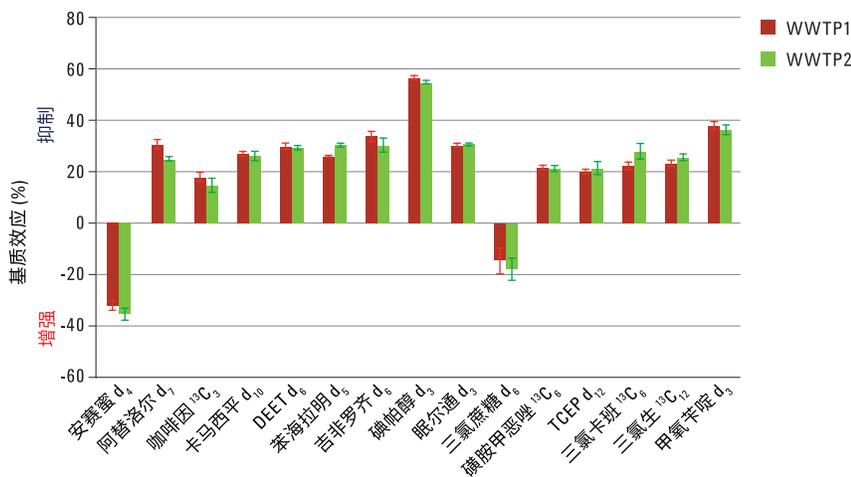


图 1. 排放污水对同位素标记替代标准品 (ILSS) 的基质效应 (n = 5)

表 5. 20 种指示物的校准精密度和线性

化合物	日间变异系数 (%)	日内变异系数 (%)	线性 (R ²)
安赛蜜	1.4	0.35	0.9987
阿替洛尔	7.7	1.3	0.9964
咖啡因	0.69	3.8	0.9967
卡马西平	6.2	1.5	0.9989
DEET	0.47	4.6	0.9951
双氯芬酸	2.0	1.0	0.9982
苯海拉明	2.7	2.1	0.9904
吉非罗齐	3.3	3.8	0.9974
氢氯噻嗪	1.0	2.5	0.9983
碘海醇	0.48	1.9	0.9988
碘普罗胺	2.2	1.8	0.9975
眠尔通	1.2	1.5	0.9975
扑米酮	0.12	2.7	0.9963
三氯蔗糖	12	0.55	0.9970
磺胺甲恶唑	0.30	2.2	0.9971
TCEP	14	0.84	0.9974
TCPP	5.6	2.4	0.9924
三氯卡班	9.9	2.3	0.9929
三氯生	1.1	1.0	0.9927
甲氧苄啶	0.97	2.8	0.9941

污水排放分析

在四家污水处理厂进行了排水采样和分析，一年内在每家工厂共抽取四个样品。所有 20 种 TO_rC 指示物都在四家污水处理厂中的至少三家检出一次以上。氢氯噻嗪、安赛蜜、三氯蔗糖、磷酸三(2-氯丙基)酯 (TCPP) 和碘海醇等指示物在所有样品中的检出浓度均足够高，理论上可以在稀释进饮用水源后检出。这些都是作为污水污染物通用指示物的良好候选者。

其他指示物的浓度通常高于其 MRL，因此可用作污水处理厂处理工艺效能、使用率和消耗模式以及季节变化的指标。这些指示物包括三氯生、磺胺甲恶唑、咖啡因、卡马西平和 DEET。这 20 种指示物的集合可分为几组同类或类似化学品以提供冗余度，另外可用于监测排放污水化合物组成的季节和地理差异。可靠的指示物列表（如本研究中确定的列表）对于研究 TO_rC 的归宿和衰减及其对水循环再利用的影响至关重要。

结论

使用直接进样 LC/MS/MS 为评价一组排放污水潜在指示物提供了一种快速且可靠的方法。样品用量仅 80 μL，去除了可能会延长分析时间、降低通量、降低方法准确性和精密度的繁琐提取步骤。20 种指示物中除三氯蔗糖 (302 ng/L) 外，其余指示物的 MRL 均为 3-37 ng/L。大多数化合物的日内和日间精密度 < 5% (变异系数)。多数化合物的基质效应均得到明确表征，其信号变化限制在 30% 以内。这种方法能够使用一组指示物检测饮用水源中的污水污染物，并监测废水处理厂的工艺效率以及季节和地理差异。

参考文献

1. T. Anumol, *et al.* "Rapid direct injection LC-MS/MS method for analysis of prioritized indicator compounds in wastewater effluent" *Environ Sci: Water Res Technol* DOI: 10.1039/c5ew00080g (2015)

更多信息

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

查找当地的安捷伦客户中心：

www.agilent.com/chem/contactus-cn

免费专线：

800-820-3278, 400-820-3278 (手机用户)

联系我们：

LSCA-China_800@agilent.com

在线询价：

www.agilent.com/chem/erfq-cn

www.agilent.com

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

本资料中的信息、说明和指标如有变更，恕不另行通知。

© 安捷伦科技（中国）有限公司，2015
2015年10月1日，中国出版
5991-6114CHCN



Agilent Technologies