

使用高分辨率 GC/Q-TOF 对地表水中的环境污染物进行全面分析

作者

Sofia Nieto 和 Kai Chen
安捷伦科技有限公司

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

摘要

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

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

前言

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

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

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

实验部分

样品前处理

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

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

数据采集与预处理

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

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

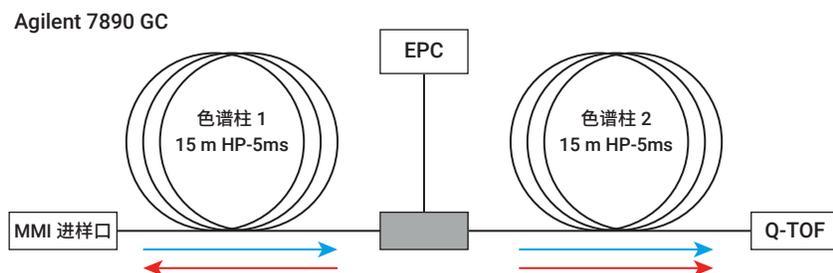


图 1. 柱中反吹配置。红色箭头表示运行结束时反吹过程中的氮气流路。吹扫两通接头处的压力升高，而进样口压力降低。这使得第一根色谱柱中的气流反向，使高沸点化合物通过分流出出口排出

疑似物筛查和非靶向筛查工作流程

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

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

表 1. GC/Q-TOF 采集参数

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

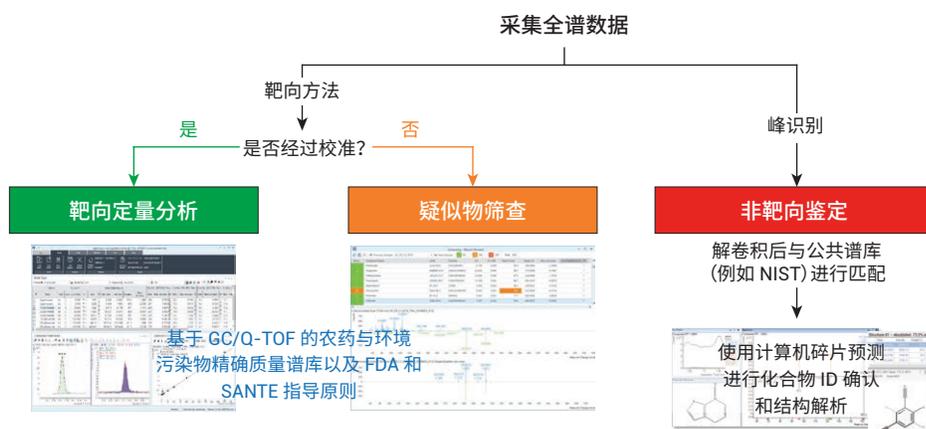


图 2. 污染物筛查工作流程，结合了使用 GC/Q-TOF PCDL 的靶向和疑似物筛查方法以及使用 NIST 谱库且随后进行未知物结构解析的非靶向筛查

未知物鉴定

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

结果与讨论

疑似物筛查结果

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

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

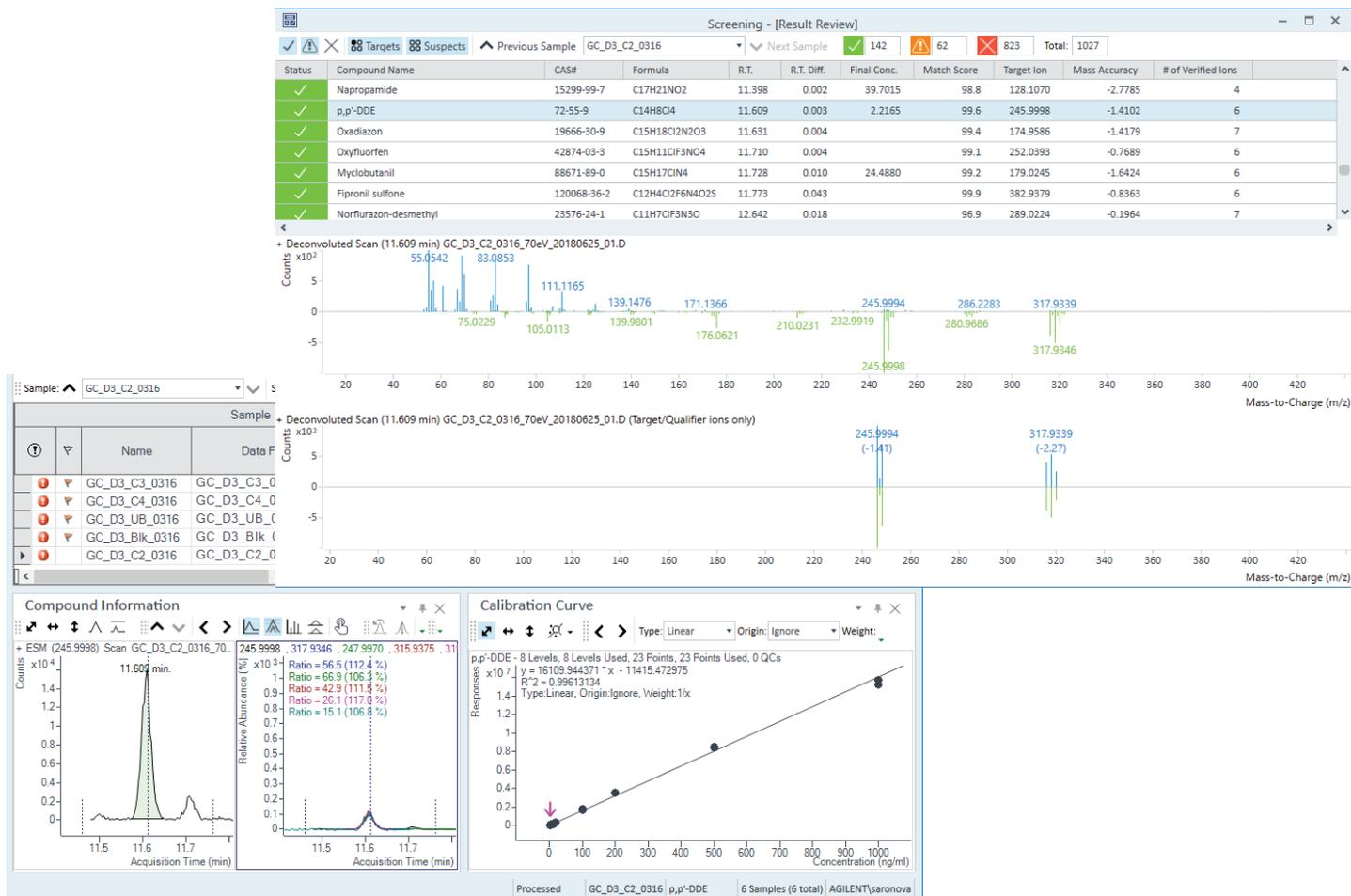


图 3. Agilent MassHunter 定量分析软件 10.1 中的疑似物筛查。筛查和定量结果窗口结合在一起，以简化审查过程

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

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

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

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

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

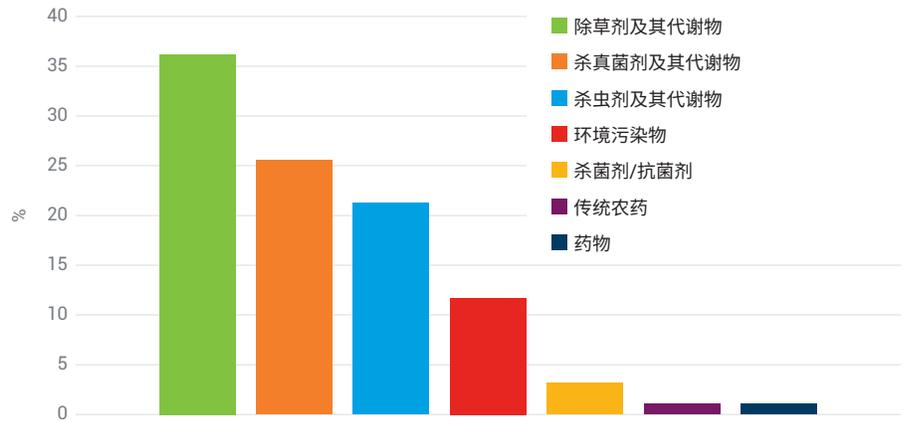
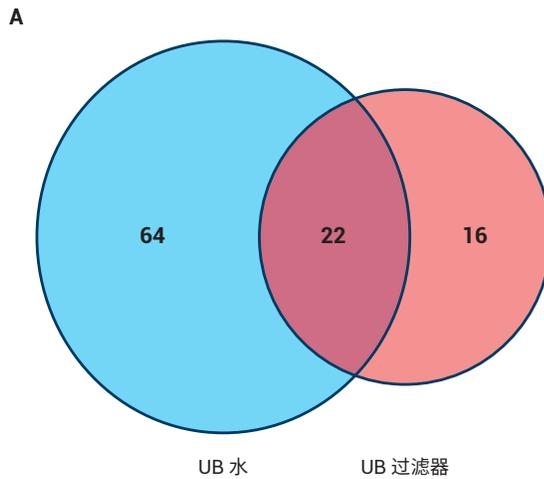


图 4. 通过 GC/Q-TOF 筛查工作流程和 PCDL 鉴定出的 UB 采样点的污染物分布



B
仅在 UB 过滤器提取物中鉴定出的化合物：

- | | |
|-----------|---------------|
| 二苯胺 (DFA) | 联苯菊酯 |
| 六氯苯 | 萘 |
| 五氯苯胺 | 顺式氯菊酯 |
| 荧蒽 | 反式氯菊酯 |
| 苊 | 苯并[b]荧蒽 |
| 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 | 苊并[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。

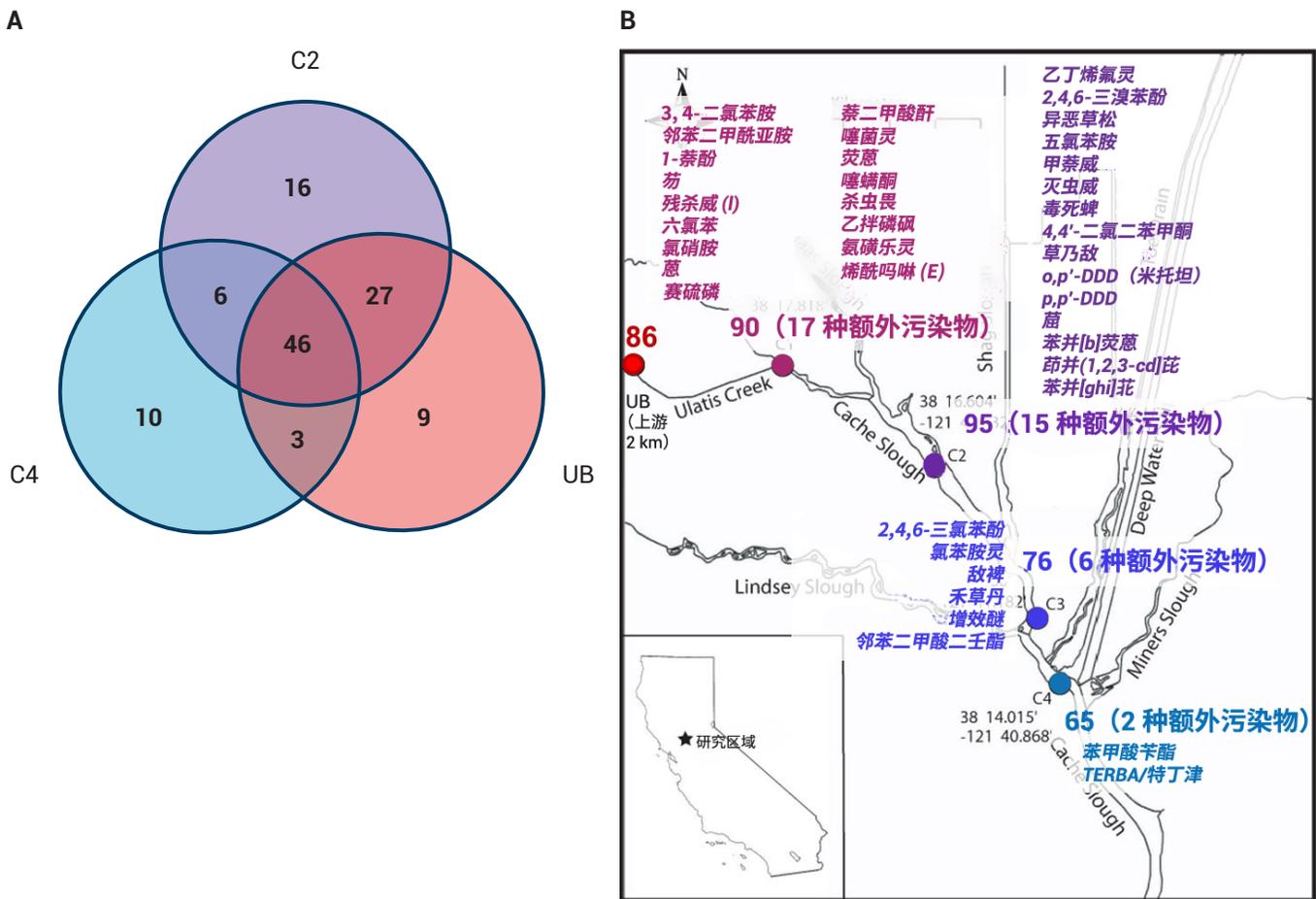


图 6. 污染物的地理分布。UB、C2 和 C4 采样点鉴定出的污染物的比较 (A)。采样地图显示了鉴定出的污染物数量以及每个采样点水流中增加的新污染物的数量 (B)

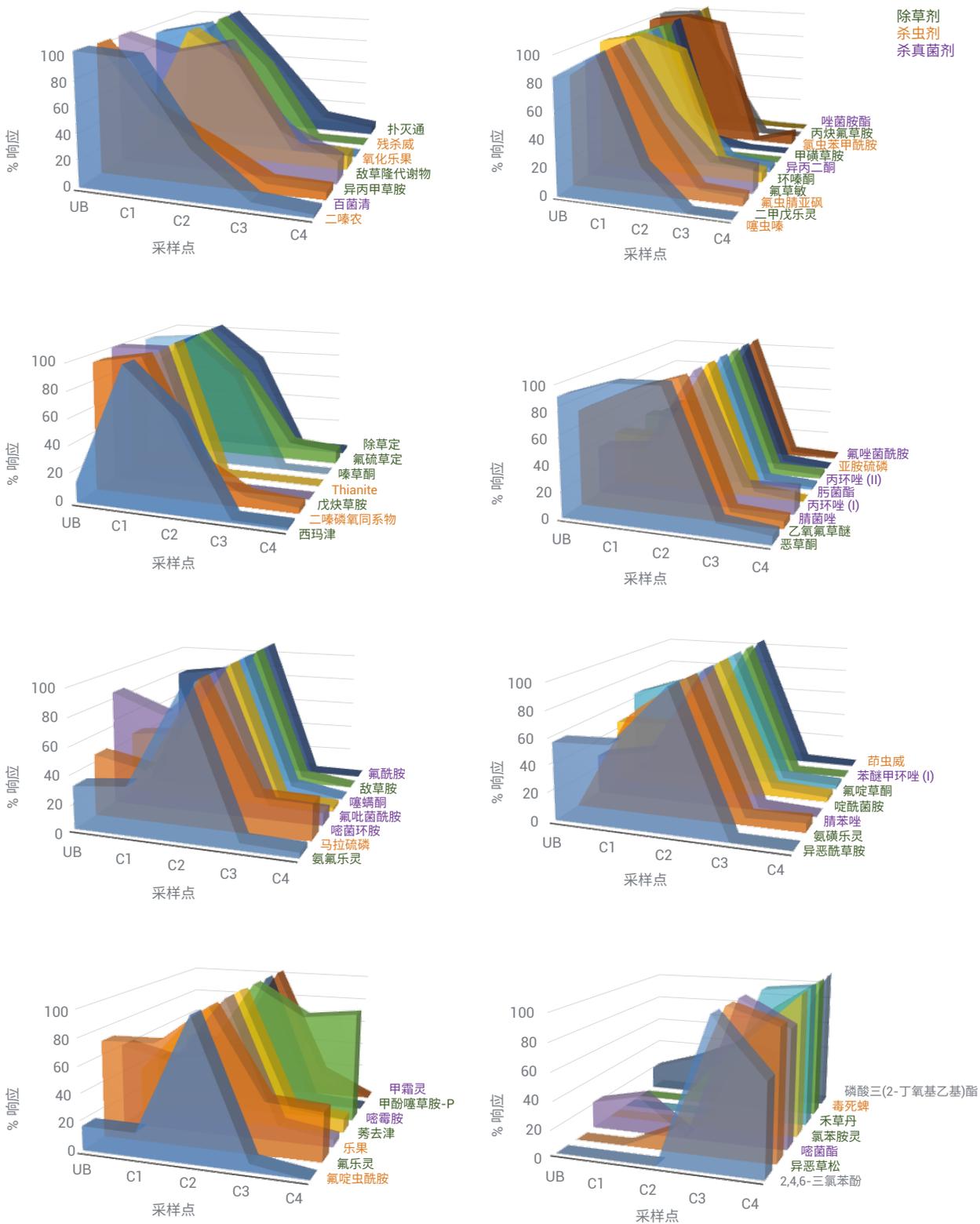
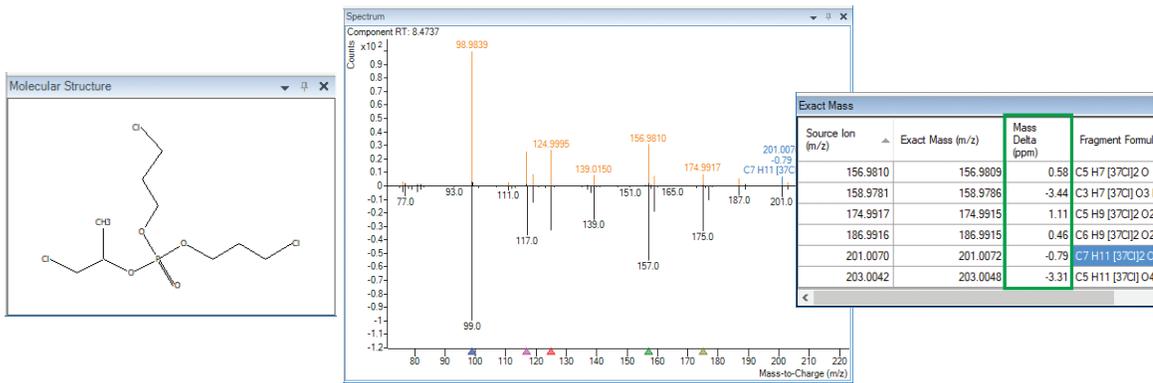
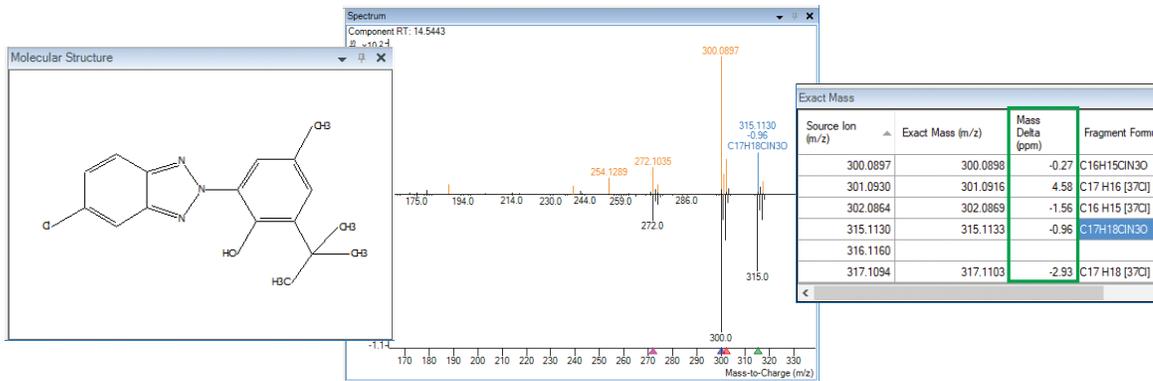


图 7. 所有采样点鉴定出的污染物的相对含量。根据化合物的地理分布情况对其进行分组

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



初步匹配：布美三唑 (C₂₇H₁₈ClN₃O)



初步匹配：甲氧沙林 (C₁₂H₈O₄)

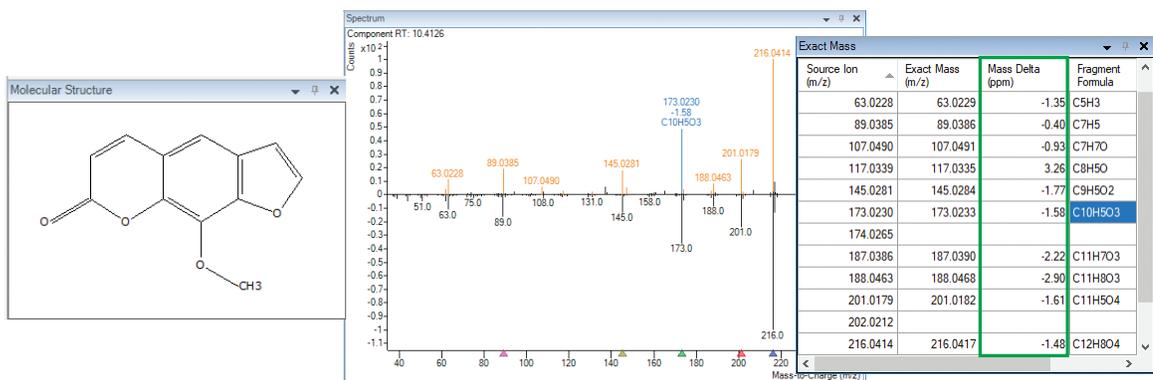


图 8. 使用 Agilent MassHunter 未知物分析软件和 NIST17.L 谱库初步鉴定出的 UB 采样点的污染物示例。解卷积谱图中碎片的低质量误差为确认匹配分子式提供了额外的依据

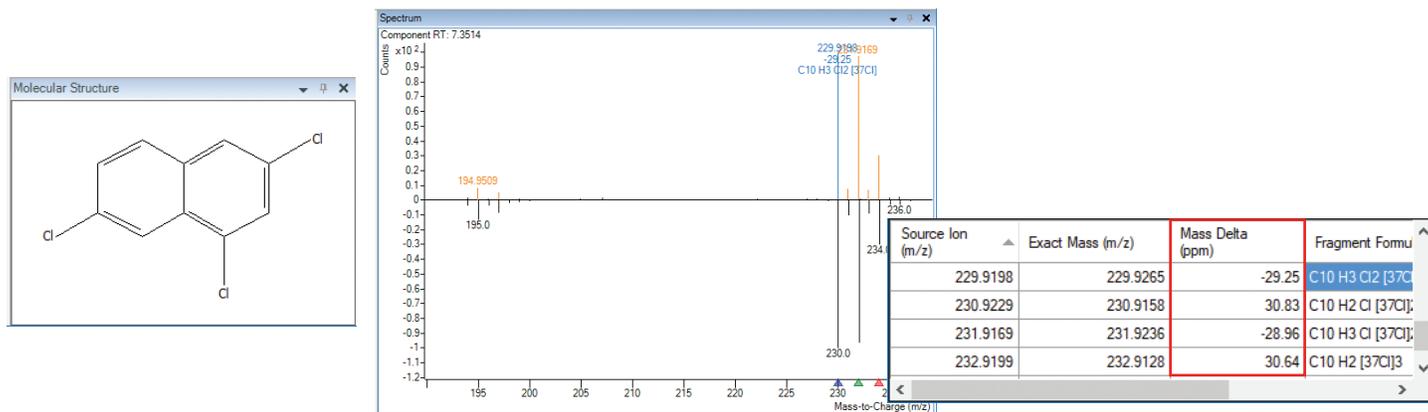
未知物鉴定

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

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

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

A 初步 NIST17 匹配: 1,3,7-三氯萘 (C₁₀H₅Cl₃)



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

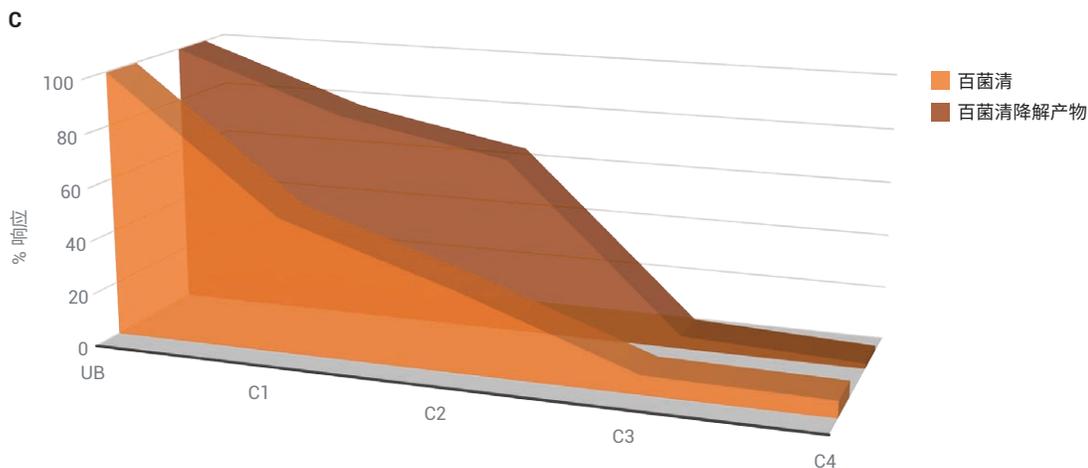
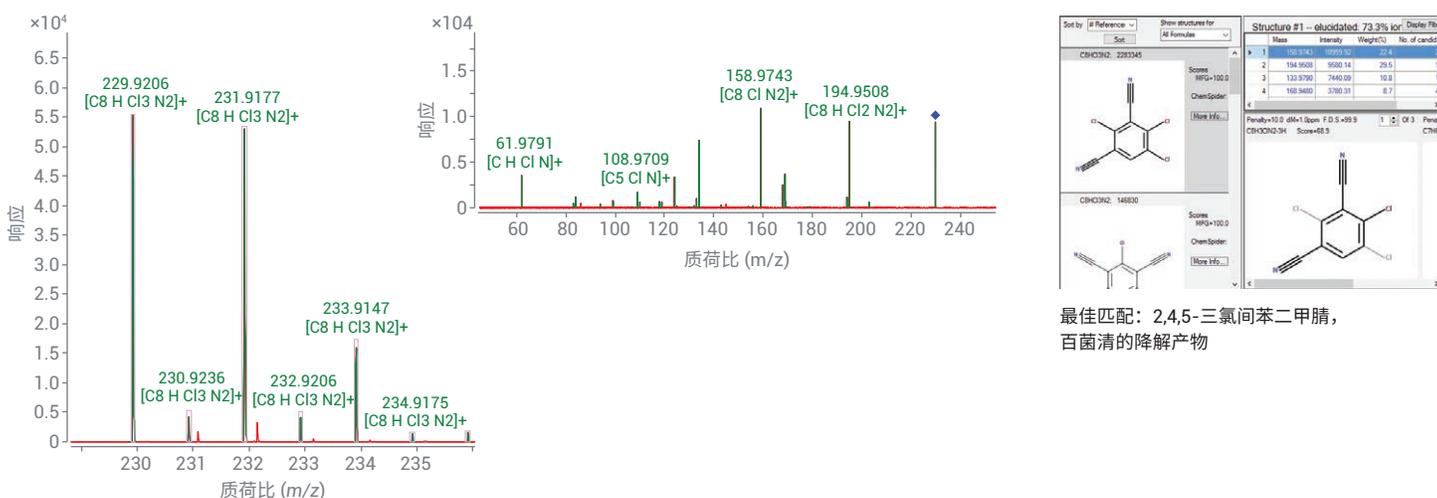


图 9. 一项初步匹配结果的鉴定确认和结构解析。明显的质量误差表明化合物鉴定错误 (A)。使用分子结构关联工具, 以精确质量产物离子谱图作为起始条件对化合物进行了鉴定 (B)。百草清及其降解产物 2,4,5-三氯间苯二甲腈在各采样点的分布 (C)

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

结论

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

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

参考文献

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

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。