

## 在线富集配合高效液相色谱串联质谱法分析水中的除草剂

米健秋 王 颖 张之旭

(安捷伦科技(中国)有限公司, 北京, 100102)

**摘 要** 建立了一种采用在线富集(online SPE)配合高效液相色谱串联质谱法(LC-MS-MS)快速分析水中除草剂残留的方法. 测定了水中的草甘膦、溴氰菊酯、呋喃丹、阿特拉津、灭草松及2,4-D等6种化合物. 该方法采用一个两位十通阀方便地实现大体积上样富集与梯度顺序洗脱的切换. 6种化合物于20 min内完全分离, 线性及重现性良好. 在进样900  $\mu\text{L}$ 时各种化合物的检出限均低于国家标准要求的限量, 结果令人满意.

随着人们对环境中除草剂以及其它化学药物残留的毒性作用关注程度的增加, 对各种环境和生物基质中除草剂的准确检测的需要更加迫切. 大多数国家对饮用水和其它食品中除草剂的允许浓度都有法规限定. 目前常用的检测除草剂的方法有气相色谱质谱联用(GC-MS)法<sup>[1-2]</sup>, 高效液相色谱法(HPLC)<sup>[3-4]</sup>与液相色谱质谱联用法<sup>[5-6]</sup>. 其中, 高效液相色谱串联质谱法被广泛地用于环境领域以及食品行业中的杀虫剂、除草剂残留物的定性定量分析; 但是这种方法通常需要离线对样品进行大量费用昂贵且费时的预浓缩处理. 为了达到政府和国际相关机构设定的严格标准以及低检测下限的要求, 我们开发了一种在线预浓缩、纯化分析方法. 采用一个两位十通阀, 通过在线阀切换, 实现样品的富集、洗脱、分离分析与柱再生全部自动完成. 该方法能够大幅提高分析检测的灵敏度、并具备良好的精确度以及实现快速的高通量分析.

### 1 实验部分

#### 1.1 仪器

Agilent 1260 UHPLC 高效液相色谱系统. 具体配置如下: 二元泵(用于色谱分离), 四元泵(用于进样), 自动进样器(配备大体积进样环), 两位十通阀, Agilent Zorbax SB-Aq 柱芯(4.6 mm  $\times$  12.5 mm, 5  $\mu\text{m}$ ,  $\times$ 2, 用于样品富集), Agilent Zorbax SB-Aq 色谱柱(2.1 mm  $\times$  100 mm, 3.5  $\mu\text{m}$ , 用于色谱分离). Agilent 6430 三重串联四极杆质谱; Agilent MassHunter 质谱数据软件; Agilent Chemstation 化学工作站软件.

#### 1.2 试剂与材料

草甘膦、溴氰菊酯、呋喃丹、阿特拉津、灭草松及2,4-D的标准品来自中国计量科学研究院, 用水配制成所需浓度的标准品混合溶液. 以水稀释分别配制成0.1、0.2、0.4、1、2、4、10、20、40、100、200、400  $\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$ 的标准溶液系列.

甲酸铵( $\text{NH}_4\text{COOH}$ , 99% DIKMA), 乙腈(色谱纯, DIKMA), 超纯水(UPW, 18  $\text{M}\Omega\cdot\text{cm}$ )取自 Milli-Q 纯水机(Millipore, Bedford, MA).

#### 1.3 分析原理

利用两位十通阀实现在线样品富集及分离的原理示意图如图1. 以图中两根 SPE 柱左侧的那根为例, 说明在线样品富集与分离的原理流程. 当阀处于位置1时, 样品由上样泵通过自动进样器进入左侧的 SPE 小柱. 由于样品基质为水相, 样品溶液中的化合物被反相的 SB-Aq 小柱所吸附, 从而实现大体积进样下的富集效果. 当阀处于位置2时, 由分析泵驱动梯度流动相反向经过富集后的 SPE 小柱, 化合物被顺序洗脱并进入分离色谱柱进行分离并进入质谱得到检测. 在色谱梯度的末尾, 富集柱与分离柱都被重新平衡. 与此同时, 下一个样品由上样泵通过自动进样器进入右侧的 SPE 小柱进行富集. 为下一次阀切换至位置1时得到洗脱与分离做准备.

#### 1.4 液相色谱条件

##### 1.4.1 上样泵的液相色谱条件

SPE 柱芯: SB-Aq 4.6 mm  $\times$  12.5 mm, 5  $\mu\text{m}$  (P. N. 820950-933); 进样量: 900  $\mu\text{L}$ ; 流量: 1  $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ ; 流动相: A: 水, B: 乙腈. 运行时间: 20 min.

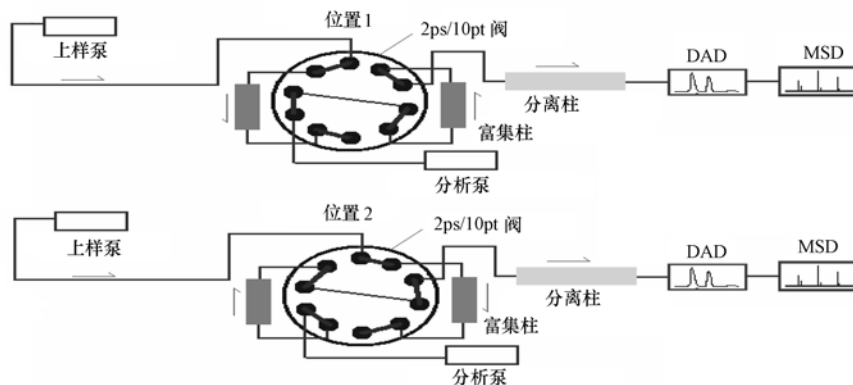


图1 利用两位十通阀实现在线样品富集及分离的原理示意图

梯度条件:0.00 min,0% B,0.5 mL·min<sup>-1</sup>;3.00 min,0% B,0.5 mL·min<sup>-1</sup>;4.00 min,0% B,1.0 mL·min<sup>-1</sup>;5.00 min,90% B,1.0 mL·min<sup>-1</sup>;6.00 min,90% B,1.0 mL·min<sup>-1</sup>;7.00 min,0% B,1.0 mL·min<sup>-1</sup>;16.00 min,0% B,1.0 mL·min<sup>-1</sup>;17.00 min,0% B,0.5 mL·min<sup>-1</sup>.

#### 1.4.2 分离泵的液相色谱条件

流动相:A:10 mmol·L<sup>-1</sup>甲酸铵水溶液,B:乙腈.分离色谱柱:Agilent ZORBAX SB-Aq 2.1 mm×100 mm,3.5 μm (P.N. 61753-914).柱温:25℃.流量:0.3 mL·min<sup>-1</sup>.运行时间:20 min.

梯度条件:0.00 min,0% B;2.00 min,0% B;5.00 min,50% B;8.00 min,50% B;9.00 min,75% B;10.00 min,90% B;11.00 min,90% B;12.00 min,0% B.

#### 1.4.3 两位十通阀设置

2 min后切换下一个位置,运行结束后切换回当前位置.

#### 1.5 质谱条件与参数

API-ES模式干燥气流量:10 L·min<sup>-1</sup>;干燥气温度:350℃;雾化器压力:45 psi;毛细管电压(pos/neg):4000 V/4000 V.

扫描类型:MRM;离子化模式ESI;切换阀To MS;Delta EMV 400.

表1 质谱参数设定

| 时间段1(0 min)<br>化合物   | 母离子   | 子离子   | 驻留时间/s | 碎裂电压/V | 碰撞能量/V | 极性       |
|----------------------|-------|-------|--------|--------|--------|----------|
| 灭草松                  | 239.1 | 197   | 60     | 120    | 12     | Negative |
|                      | 239.1 | 132   | 60     | 120    | 20     | Negative |
| 2,4-D                | 219   | 160.9 | 60     | 70     | 5      | Negative |
|                      | 219   | 125   | 60     | 70     | 22     | Negative |
| 草甘膦                  | 168   | 150   | 60     | 70     | 2      | Negative |
|                      | 168   | 63    | 60     | 70     | 20     | Negative |
| 时间段2(8.5 min)<br>化合物 | 母离子   | 子离子   | 驻留时间/s | 碎裂电压/V | 碰撞能量/V | 极性       |
| 溴氰菊酯                 | 506   | 280.8 | 60     | 124    | 5      | Positive |
|                      | 506   | 173.8 | 60     | 124    | 29     | Positive |
| 呋喃丹                  | 222.2 | 165   | 60     | 120    | 5      | Positive |
|                      | 222.2 | 123   | 60     | 120    | 20     | Positive |
| 阿特拉津                 | 216   | 174.1 | 60     | 100    | 15     | Positive |
|                      | 216   | 104   | 60     | 100    | 20     | Positive |

## 2 结果与讨论

### 2.1 混合标准品的总离子流图(TIC)与多重反应监测(MRM)提取离子流图

图2为混合标准溶液的TIC与MRM图谱(包括时间段1与2).(浓度分别为草甘膦0.5 ppm;溴氰菊酯20 ppb;阿特拉津0.2 ppb;其它化合物2 ppb)

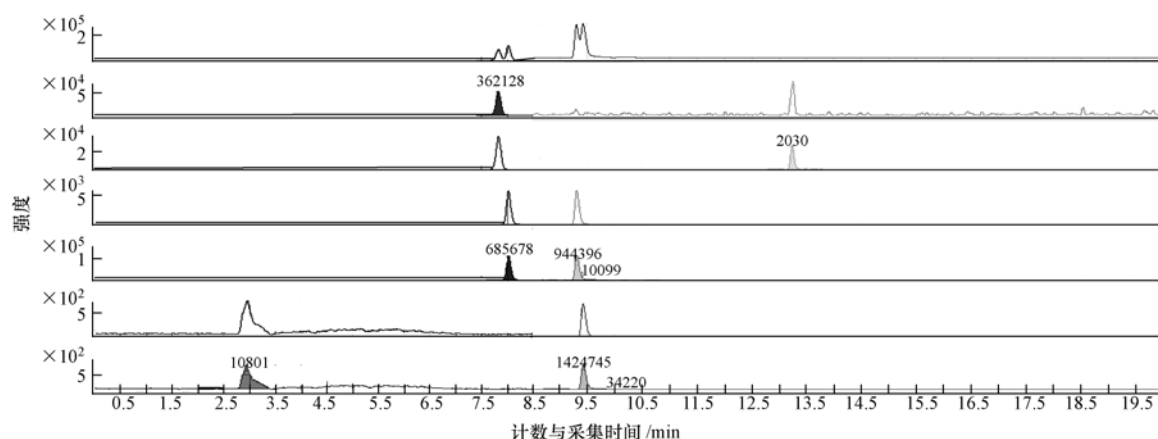


图2 混合标准溶液的 TIC 与 MRM 图谱

## 2.2 方法的灵敏度

由于大体积进样与富集,方法的灵敏度能够轻松满足国家标准的要求.结果见表3.

表3 方法的灵敏度

| 化合物名称 | 浓度/(ng·mL <sup>-1</sup> ) | 信噪比(SNR) | 国家标准要求的定量限/(ng·mL <sup>-1</sup> ) |
|-------|---------------------------|----------|-----------------------------------|
| 草甘膦   | 500                       | 49       | 700                               |
| 呋喃丹   | 2                         | 7851     | 7                                 |
| 阿特拉津  | 0.2                       | 5757     | 2                                 |
| 2,4-D | 2                         | 571      | 30                                |
| 灭草松   | 2                         | 887      | 300                               |
| 溴氰菊酯  | 20                        | 118      | 20                                |

## 2.3 校准曲线

在前述的实验条件下,分别测定不同浓度的6种除草剂混合标准溶液.校准曲线如图3所示.由于富集作用的存在,灵敏度得到了大幅度的提升,因此除去灵敏度相对较低的草甘膦与溴氰菊酯,其他4种除草剂的线性范围都在ppb数量级以下.当浓度增高时,因为信号过强而超出了质谱的线性响应范围.

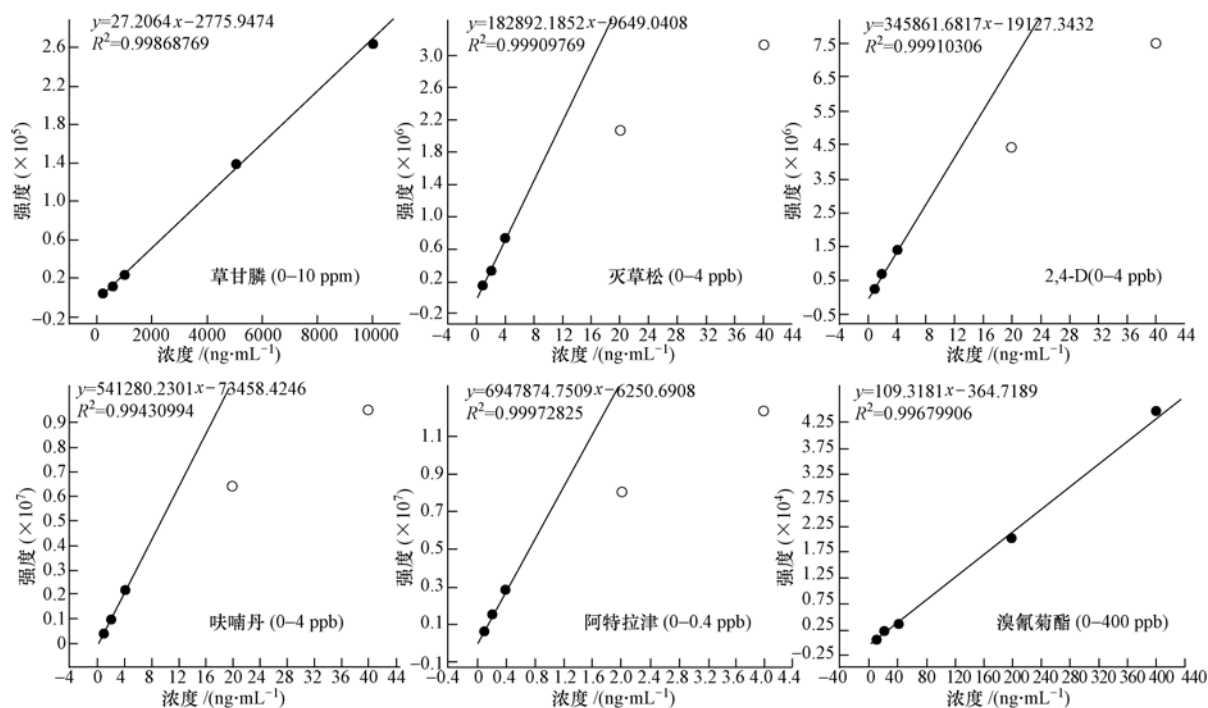


图3 6种除草剂的校准曲线

## 2.4 分析结果的重现性

对连续 6 次进样的重现性进行了考察. 6 种化合物的保留时间与峰面积的重现性结果如下:除了草甘膦由于极性较强,在色谱柱上保留较弱外,其它 5 种化合物均获得了良好的重现性(表 4).

表 4 分析结果的重现性

| Date File    | Acq. Date-Time | 草甘膦   |       | 灭草松   |         | 2,4-D |         | 呋喃丹   |         | 阿特拉津  |          | 溴氰菊酯   |       |
|--------------|----------------|-------|-------|-------|---------|-------|---------|-------|---------|-------|----------|--------|-------|
|              |                | RT    | Resp. | RT    | Resp.   | RT    | Resp.   | RT    | Resp.   | RT    | Resp.    | RT     | Resp. |
| repro-001. d | 40172. 62803   | 2. 94 | 27440 | 7. 84 | 1092015 | 8. 03 | 2197880 | 9. 31 | 2327397 | 9. 43 | 14467393 | 13. 23 | 78934 |
| repro-002. d | 40172. 64203   | 2. 96 | 32867 | 7. 84 | 1101876 | 8. 03 | 2232228 | 9. 31 | 2363893 | 9. 43 | 14959988 | 13. 24 | 76167 |
| repro-003. d | 40172. 65609   | 2. 94 | 33741 | 7. 83 | 1073351 | 8. 03 | 2202387 | 9. 31 | 2407227 | 9. 43 | 15115193 | 13. 24 | 73221 |
| repro-004. d | 40172. 67012   | 2. 96 | 30833 | 7. 83 | 1058966 | 8. 03 | 2158504 | 9. 31 | 2397281 | 9. 43 | 15087881 | 13. 24 | 74456 |
| repro-005. d | 40172. 68414   | 2. 95 | 34390 | 7. 83 | 1052826 | 8. 02 | 2167334 | 9. 31 | 2358166 | 9. 43 | 14892217 | 13. 23 | 76644 |
| repro-006. d | 40172. 69817   | 2. 96 | 28560 | 7. 83 | 1030334 | 8. 02 | 2111798 | 9. 31 | 2350801 | 9. 43 | 14856379 | 13. 24 | 67286 |
| RSD%         |                | 0. 37 | 9. 10 | 0. 04 | 2. 47   | 0. 03 | 1. 93   | 0. 01 | 1. 26   | 0. 01 | 1. 57    | 0. 02  | 5. 40 |

## 2.5 标准添加水样的测定

向空白自来水中添加配制成含草甘膦  $3 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , 阿特拉津  $0.3 \text{ ng} \cdot \text{L}^{-1}$ , 溴氰菊酯  $300 \text{ ng} \cdot \text{L}^{-1}$ , 灭草松, 呋喃丹与 2,4-D 均为 3ppb 的样品. 平行分析 3 次, 计算回收率在 70%—100% 之间且结果重现性良好.

## 3 结论

本文建立了采用在线富集配合高效液相色谱串联质谱法快速分析水中除草剂的方法. 方法采用两位十通阀实现了两根 SPE 柱交替循环使用, 从而使得总分析时间节省一半, 样品通量得到翻番. 方法的重现性均令人满意. 此方法快速灵敏, 且仪器配置简单, 容易实现, 适合在水质分析等相关行业推广使用.

## 参 考 文 献

- [ 1 ] Xu X Q, Yang H H, Wang L, et al. Analysis of chloroacetanilide herbicides in water samples by solid-phase microextraction coupled with gas chromatography-mass spectrometry[J]. Analytica Chimica Acta, 2007, 591(1): 87-96
- [ 2 ] Zhao R S, Diao C P, Chen Q F, et al. Sensitive determination of amide herbicides in environmental water samples by a combination of solid-phase extraction and dispersive liquid-liquid microextraction prior to GC-MS[J]. Journal of Separation Science, 2009; 32 (7): 1069
- [ 3 ] Rita C M, Encarnacion R G, Eliseo H H, et al. Determination of herbicides and metabolites by solid-phase extraction and liquid chromatography: Evaluation of pollution due to herbicides in surface and groundwaters[J]. Journal of Chromatography A. 2002, 950: 157-166
- [ 4 ] Pinto G M F, Jar dim I C S F. Mobile phase optimization for the separation of some herbicide samples using HPLC[J]. Journal of Liquid Chromatography Related Technologies, 2000, 23 (9): 1353-1363
- [ 5 ] Rodriguez M, Orescan D B. M Rodriguez, D B. Orescan. Confirmation and Quantitation of Selected Sulfonylurea, Imidazolinone, and Sulfonamide Herbicides in Surface Water Using Electrospray LC/MS[J]. Analytical Chemistry, 1998, 70 (13): 2710-2717
- [ 6 ] Safarpour H, Asiaie R, Katz S. H Safarpour, R Asiaie, S Katz. Quantitative analysis of imazamox herbicide in environmental water samples by capillary electrophoresis electrospray ionization mass spectrometry[J]. Journal of Chromatography A, 2004, 1036: 217-222