

采用超灵敏UPLC/MS/MS对饮用水样品中的酸性除草剂进行定量分析

Claude R. Mallet, Dimple Shah, Jennifer Burgess
沃特世公司, 美国马萨诸塞州米尔福德

应用收益

- 使用ACQUITY UPLC® BEH C₁₈色谱柱实现快速的UPLC®分离
- 高灵敏度和高选择性的UPLC/MS/MS分析方法, 定量限可达5 ppt
- 无需样品处理和样品制备步骤

沃特世提供的解决方案

ACQUITY UPLC I-Class 系统

Xevo® TQ-S 质谱仪

ACQUITY UPLC BEH C₁₈ 柱

RADAR™ 技术

Quanpedia™ 数据库

关键词

苯氧乙酸、饮用水、直接进样

引言

苯氧乙酸是一种除草剂。它于1940年首次推向市场, 并于20世纪50年代在农业生产中普遍使用。苯氧乙酸广泛应用于林业生产中, 有时也会用于家庭园艺。它们约占据了农业用除草剂70%的份额¹。因此, 除草剂是环境检测中重点关注的一类污染物, 地表水和地下水以及饮用水这些环境监测, 都需要对除草剂进行监测。

当化学品用于农作物保护时, 其毒性是一个关键的因素。通常需要对这些化学品进行健康和风险评估。例如, 2,4-二氯苯氧乙酸(2,4-D)用于各种农作物(水果和蔬菜)的保护以及草场和草地的维护。这种除草剂在美国获得了注册, 原因是这种除草剂拥有良好的环保属性, 其对陆生环境和水生环境的影响是最小的。2,4-D也是一种可被土壤中的微生物快速降解的除草剂, 并且在正常使用的情况下, 它不会残留在土壤中、也不会累积或渗入地下水中²。2005年, 美国国家环境保护局批准继续使用2,4-D³, 规定最高污染物水平目标值(MCLG)为70 ug/L。欧盟也对2,4-D进行了评估, 并将其列入获批农药。因为其残留量不会产生任何可测量的对人类和动物有害健康的问题⁴。

并非所有苯氧乙酸除草剂均显示出低毒性。例如, 2,4,5-三氯苯氧乙酸(2,4,5-T)在越南战争时才为人所知。因为苯氧乙酸类除草剂对阔叶植物具有速效活性, 因此这些除草剂被广泛用作速效脱叶剂, 其名称为“橙剂”⁵。其配方与2,4,5-T和2,4-D具有相同的结构。其毒性与剧毒物质二噁英的2,4,5-T的污染有关。1985年, 美国国家环境保护局禁止在美国使用所有未用完的2,4,5-T。

对于那些已经获得注册用于商业用途的苯氧乙酸类除草剂, 欧盟委员会指令⁷声明, 人类饮用水中含有的农药单剂成分不应超过100 ng/L, 并且所有农药的总量不得超过500 ng/L。在美国, 这些除草剂通过环保局的最低检测限为(MDL's) 50 ng/L的方法515.4(GC/ECD)以及最低检测限为100 ng/L的方法555(LC/UV)进行监测。

实验

UPLC条件

UPLC系统:	ACQUITY UPLC-Class
运行时间:	6.0 min
色谱柱:	ACQUITY UPLC BEH C ₁₈ , 2.1 x 100 mm, 1.7 μm
柱温:	25 °C
流动相A:	0.5 % NH ₄ OH水溶液
流动相B:	0.5 % NH ₄ OH乙腈溶液
洗脱:	从5% (B)到95% (B)的 3分钟线性梯度
流速:	0.4 mL/min
进样量:	100 μL

质谱条件

质谱系统:	Xevo TQ-S
电离模式:	ESI负离子
毛细管电压:	2.0 kV
锥孔电压:	20.0 V
离子源温度:	140 °C
脱溶剂温度:	550 °C
脱溶剂气体流速:	1100 L/hr
锥孔气体流速:	50 L/hr

本篇应用纪要介绍了一种分析饮用水中苯氧乙酸除草剂的新方法。该方法使用沃特世超高灵敏度的Xevo TQ-S串联四极杆质谱仪，结合ACQUITY UPLC系统直接进样检测。在I-Class系统上直接进样的方法使分析的痕量水平低达2.5 ng/L而无需在样品制备过程中采用传统的大体积富集操作。这样可以缩短分析时间，并且能够快速得到分析结果。

双酚类物质(BPA、BPB和BPE)的化学结构以及所用的MRM条件已分别在图1和表1中列出。在本应用开始时，选择存储在Quanpedia数据中的MRM转移并使用IntelliStart™智能启动技术来优化针对附加化合物的条件。Quanpedia是一个可扩展和可搜索的数据库，用于定量LC/MS和获取LC/MS/MS方法信息，该数据库简化并且加快了定量分析方法的创建步骤。IntelliStart直观性软件可用于启动、调节和校准沃特世质谱仪，更重要的是，它可自动进行色谱分析调节以及自动建立质谱方法。在配备了ACQUITY UPLC BEH C₁₈ 2 x 100 mm色谱柱的ACQUITY UPLC系统上实现色谱分离。使用添加了0.5 % NH₄OH的乙腈-水作为流动相，进行3分钟线性梯度洗脱。使用Xevo TQ-S质谱仪进行检测。苯氧乙酸标准品购于Sigma Aldrich公司(美国密苏里州圣路易斯市)。使用超纯水配制校准标准溶液。饮用水样品采集自瓶装水和室内自来水。

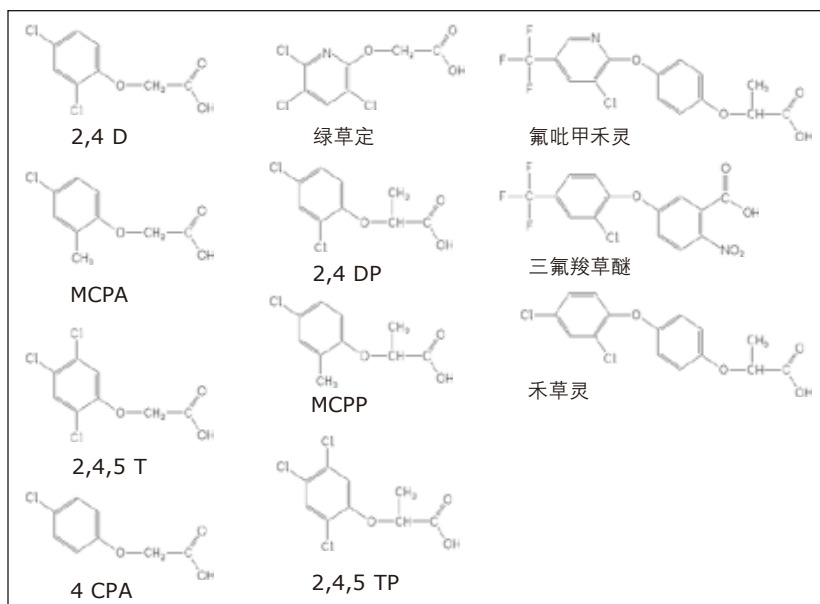


图1.本研究中使用的苯氧乙酸类除草剂的化学结构。

除草剂	母离子	子离子	锥孔电压	碰撞能量
4氯苯氧乙酸 (4CPA)	185.0	90.9	20	40
	185.0	127.0	20	15
2-甲-4氯苯 氧乙酸 (MCPA)	199.0	105.0	20	40
	199.0	141.0	20	15
2-甲基-4氯苯 氧丙酸 (MCPD)	213.0	105.0	20	40
	213.0	141.0	20	15
2,4-二氯苯 氧乙酸 (2,4-D)	218.9	125.0	20	40
	218.9	160.9	20	15
2,4-二氧苯 氧丙酸 (2,4-DP)	233.0	125.0	20	40
	233.0	160.9	20	15
2,4,5-三氯 苯氧乙酸 (2,4,5-T)	254.9	160.9	20	40
	254.9	196.9	20	15
绿草定	255.9	175.7	20	30
	255.9	197.8	20	10
2,4,5-三氯苯氧 丙酸 (2,4,5-TP)	268.9	160.9	20	40
	268.9	196.9	20	15
禾草灵	324.9	145.0	20	25
	324.9	253.0	20	15
氟吡甲禾灵	359.0	252.0	20	25
	359.0	288.0	20	15
三氟羧草醚	359.9	194.9	20	20
	359.9	315.9	20	10

表1. 苯氧乙酸类除草剂的MRM条件。

结果与讨论

进行ng/L痕量水平的分析时，萃取方法涵盖了达到目标灵敏度水平的富集步骤。该灵敏度要求意味着需要处理大量的样品体积(高达1000 mL)，即需要进行耗时耗力的样品处理。通过引入新型的StepWave™离子光学技术，Xevo TQ-S质谱仪具备无与伦比的痕量分析性能。其高灵敏度使人们可以省掉与饮用水污染物的痕量检测相关的繁琐的样品浓缩操作。只需通过使用配备Xevo TQ-S质谱仪的ACQUITY UPLC I-Class增加进样量(高达100 µL)，即可对干净的水样品进行直接柱上预浓缩。

定量

在本应用中，使用MilliQ超纯水配制校准标准溶液对瓶装水和自来水样品进行定量分析。如图2所示，自来水中2,4-D和2,4,5-T的校准曲线显示，在5 ng/L ~ 1000 ng/L的范围内，校准曲线具有良好线性(r^2 为0.999)。除绿草定在25 ng/L ~ 1000 ng/L显示良好线性、 r^2 的值为0.995以外，混合物中的其他苯氧乙酸除草剂的线性回归特性相似， r^2 的范围是0.997 ~ 0.999。

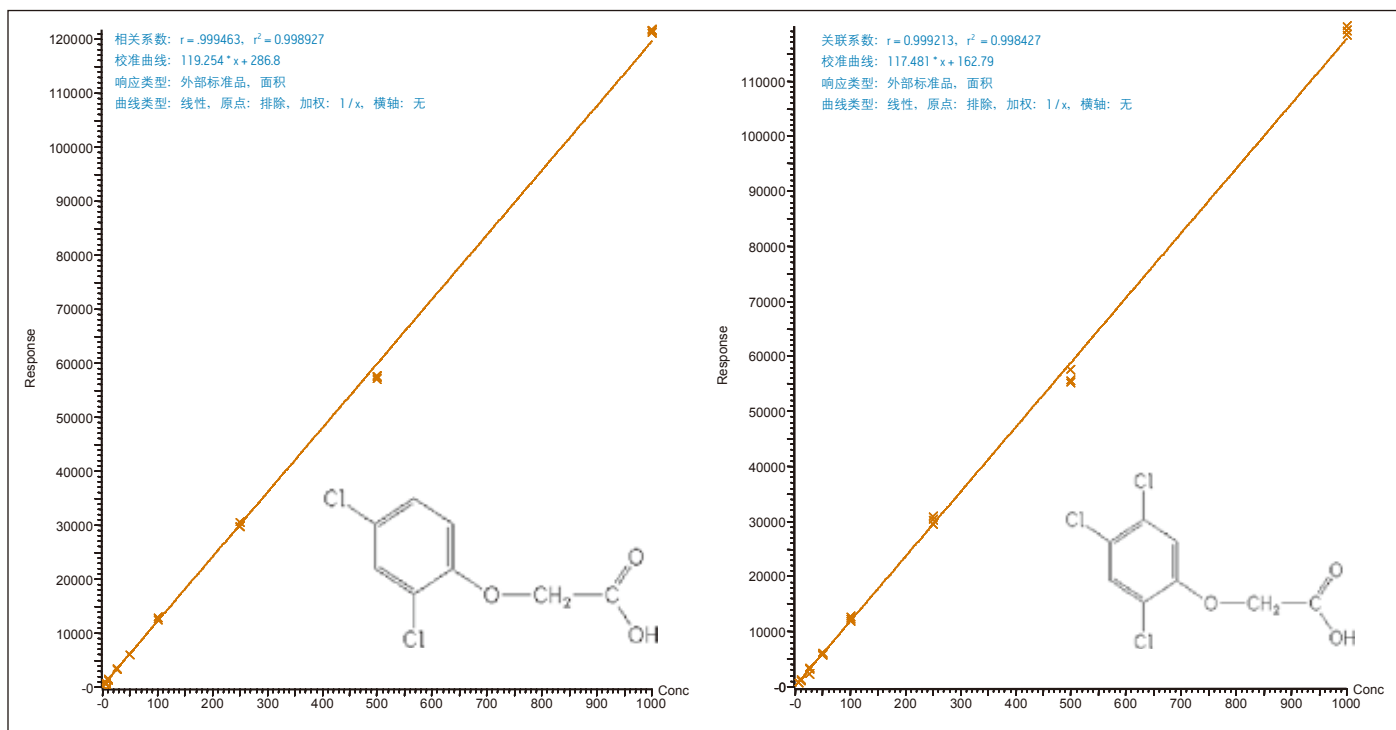


图2. 自来水中2,4 D和2,4,5 T在5 ~ 1000 ppt范围内的校准曲线。

除绿草定的检测限为5 ng/L以外，所有苯氧乙酸类除草剂的检测限 (LOD) 均为2.5 ng/L。图3所示的MRM色谱图用于为分析物选择检测限。苯氧乙酸类除草剂加标物为100 ng/L的回收率计算值显示在表2中。对于多数除草剂，两种水样品的平均变异系数(CV's)均远低于5%。仅一种除草剂(绿草定)的变异系数稍高，瓶装水和自来水的变异系数分别为5.03%和6.59%。

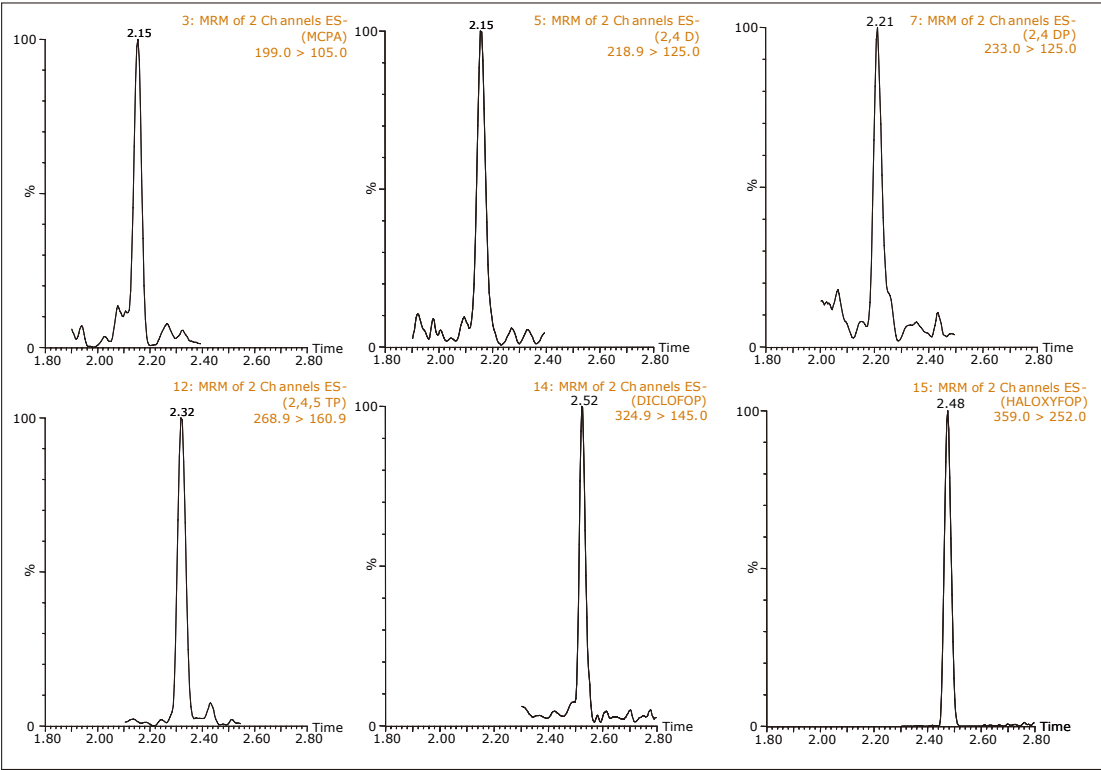


图3. 选择的苯氧乙酸类除草剂在2.5 ppt处的MRM色谱图。

除草剂	瓶装水	自来水
4-氯苯氧乙酸 (4-CPA)	114.4 (1.4)	97.6 (1.6)
2-甲-4氯苯氧乙酸 (MCPA)	113.6 (1.3)	93.4 (1.3)
2-甲基-4氯苯氧丙酸 (MCP P)	100.8 (3.1)	90.7 (1.5)
2,4-二氯苯氧乙酸 (2,4-D)	104.6 (1.6)	85.0 (3.3)
2,4-二氯苯氧丙酸 (2,4-DP)	112.0 (2.7)	95.3 (4.5)
2,4,5-三氯苯氧乙酸 (2,4,5 T)	101.6 (1.6)	83.3 (1.1)
绿草定	100.5 (5.0)	91.1 (6.6)
2,4,5-三氯苯氧丙酸 (2,4,5-TP)	102.3 (2.4)	88.5 (0.6)
禾草灵	117.3 (2.9)	98.1 (2.0)
氟吡甲禾灵	113.8 (1.0)	92.5 (2.7)
三氟羧草醚	115.4 (1.8)	86.6 (0.9)

表2. 瓶装水和自来水样品在100 ppt处的回收率和变异系数 (n=3)。

RADAR技术

RADAR技术是沃特世Xevo串联四极杆质谱仪的一种独特功能，可同步采集全扫描质谱数据和MRM转换数据。该功能使人们能够在方法开发过程中作出明智决定。通过使用RADAR模式，可以采集关键信息，例如水样品复杂性概况，从而最终影响分析柱的寿命和方法的稳健性。图4是100 ng/L的除草剂的标准MRM色谱图。

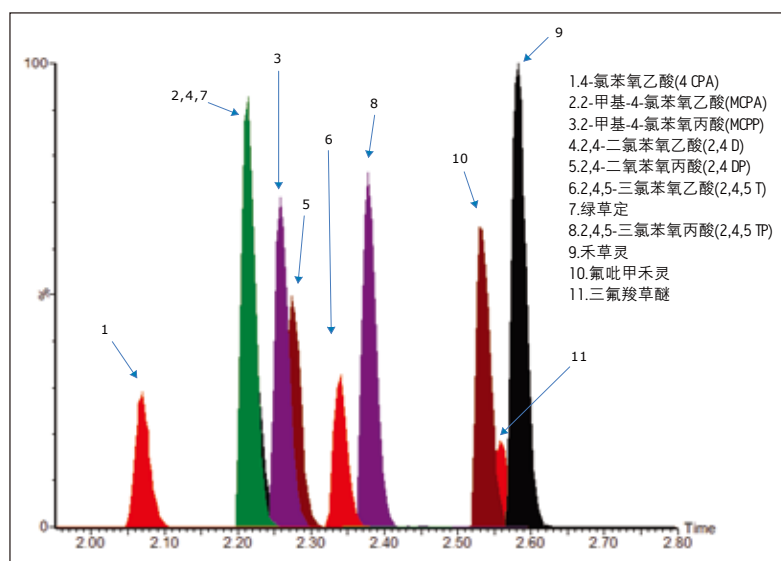


图4. 100 ppt时苯氧乙酸类除草剂标准品超纯水溶液的MRM色谱图。

整体而言，色谱图显示了分离度很大的色谱峰，所有分析物呈高斯分布，这种分布是定量中峰积分的关键参数。色谱图还显示共洗脱区域。通过质谱仪的检测，在色谱分析过程中共洗脱的分析物根据它们的质荷比进行分离。总洗脱时间少于3分钟。RADAR数据也在同一时间采集，这些数据可以用于确认除草剂是否从潜在的基质干扰区域内洗脱出来。超纯水、瓶装水和自来水样品的RADAR数据的TIC色谱图见图5。图5中的MilliQ超纯水和瓶装水样品详细地显示了在最后一分钟梯度内潜在基质效应区域，保留时间的范围是2.8 ~ 3.5 min。

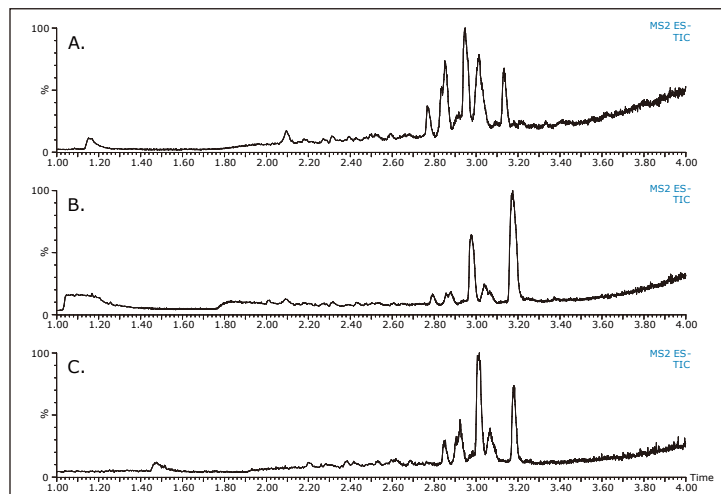


图5.A) MilliQ超纯水, B) 瓶装水, C) 自来水的RADAR全扫描总离子色谱。

通过将最早洗脱和最晚洗脱的除草剂的MRM色谱图与RADAR数据叠合，如图6所示。从图中可以看出，除草剂洗脱时间至少比基质区域早30秒。通过RADAR技术采集的信息，获得了该方法稳健性的置信度，可以对基质随时间发生的变化进行监测，以确认是否存在潜在的干扰。

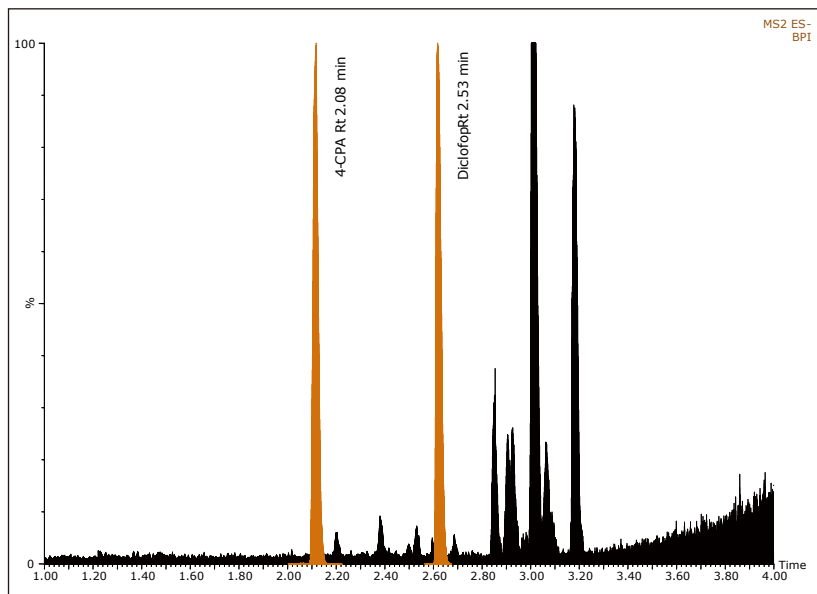


图6. 最早洗脱分析物和最晚洗脱的分析物的RADAR全扫描离子束接口 (BPI) 色谱图与MRM色谱图。

寿命与稳健性

使用自来水和瓶装水样品进行色谱柱寿命研究的结果如图7所示。将样品注入到同样的一根色谱柱上，结果显示，即使进样1000次，分析性能也未下降。如图7所示，水样品的第1次进样和第500次进样得到的峰形未见变形或拖尾的现象。

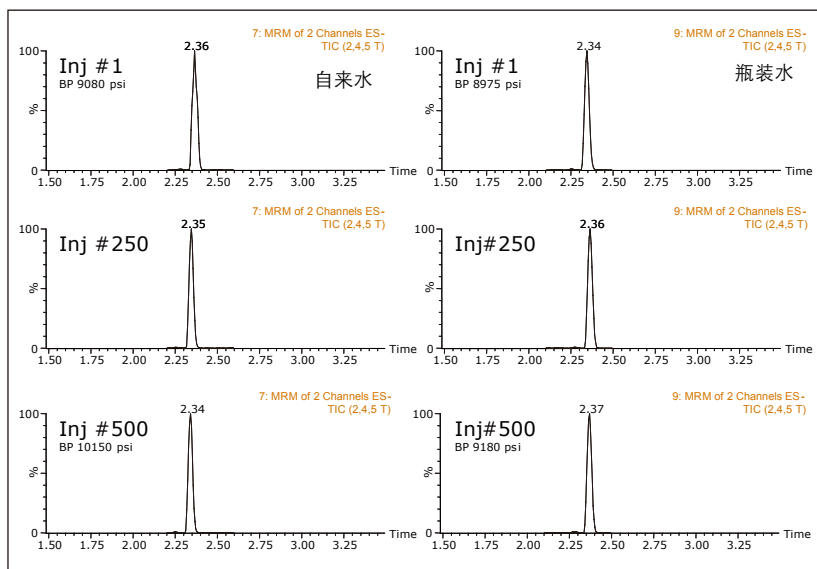


图7. 色谱柱寿命研究多反应监测色谱图示例。图中显示自来水和瓶装水样品2,4,5-三氯苯乙酸第1次、第250次和第500次进样。

TrendPlot™软件的示例如图8所示。软件从整体角度展示了瓶装水中2,4,5-三氯苯氧乙酸(2,4,5-T)150次进样后再现性良好。在色谱柱整个使用过程中监测分析柱的寿命是色谱柱分析性能的优良指标。通过在分析柱中采用额定压力为18,000 psi的亚2 μm颗粒的超高效液相色谱(UPLC)，直接进样技术对这些饮用水样品进行分析得到可靠的结果。

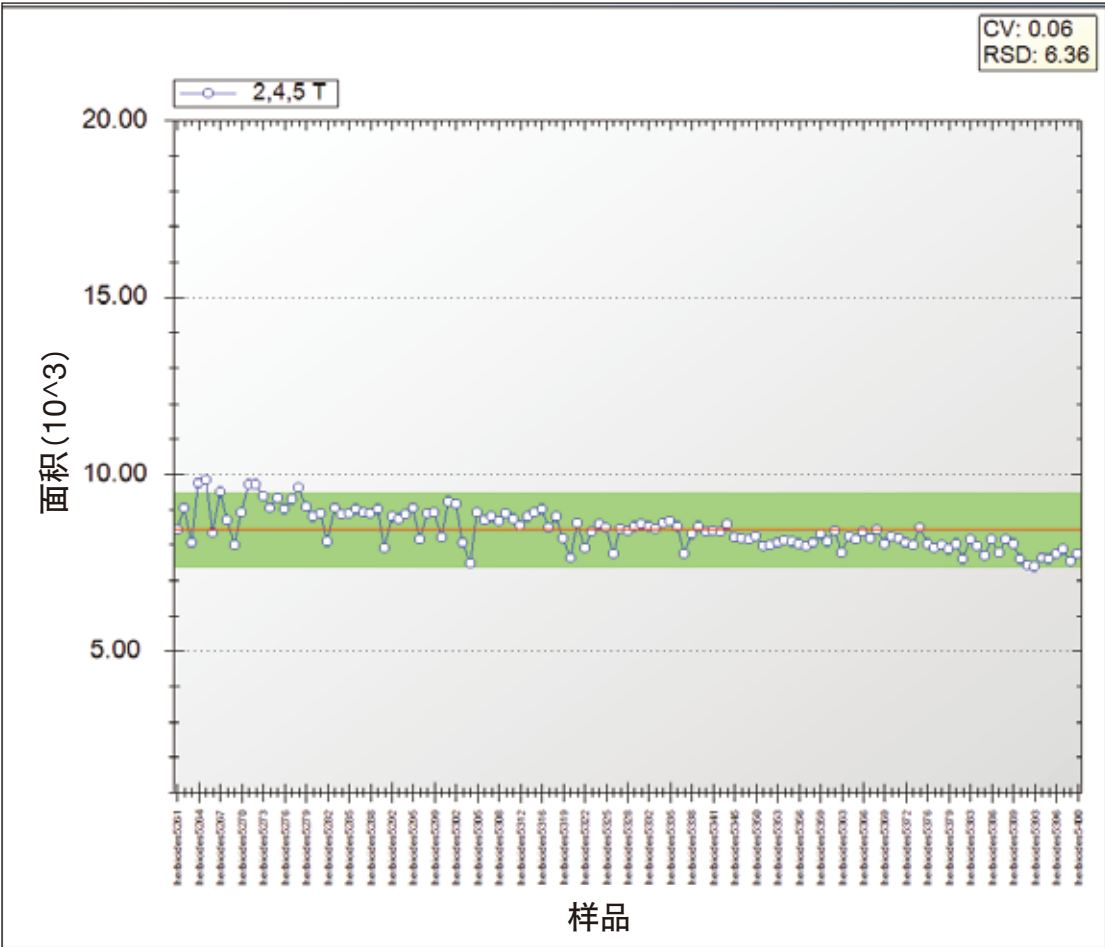


图8. 瓶装水2,4,5-三氯苯氧乙酸(2,4,5-T)150次进样的TrendPlot绘图。

例如，在本应用中，经过500次进样后，对于瓶装水，背压升高幅度低于200 psi；而对于自来水，背压升高约1000 psi。从这些结果可以看出，瓶装水分析时的背压升高幅度小，说明相对于自来水，瓶装水样品质量较高。至于自来水，背压升高梯度较陡，升高幅度较大。得到这个结果最可能的原因是样品含有较高浓度的颗粒物，溶解性有机物或者不溶性干扰物质。在这种情况下，这些物质可能会随着时间的推移而积聚在色谱柱前端，从而导致分析自来水样品时背压升高。在分析低品质样品的过程中，可能会看到陡峭的背压升高峰形，可能最终导致随后进样的色谱性能较差。加入样品过滤步骤可延长色谱柱寿命。总之，对于本应用，瓶装水样品和自来水样品中苯氧乙酸类除草剂的峰形良好，即使每个样品进样500次，也未出现峰形变形的现象。即使在自来水样品的分析中可观察到背压升高幅度较大，但是色谱图表明，系统的运行性能仍然最佳。

结论

采用传统的分析仪器(例如HPLC)进行痕量分析通常需要繁琐且费力的标准操作规程(SOP's)。本应用纪要展示了使用配备Xevo TQ-S质谱仪的ACQUITY I-Class UPLC系统直接进样的广泛用途,并将其用于分析自来水和瓶装水样品中的苯氧乙酸类除草剂。在本研究中,大部分苯氧乙酸类除草剂的检测限(LOD)为2.5 ng/L,超出了美国国家环境保护局和欧盟委员会指令规定的检测限要求。Xevo TQ-S灵敏度高,1次100 µL进样即可实现出色的定量而无需任何进样前的前处理操作。回收率数据显示结果良好,两种水样品分析的变异系数均小于5%。通过对潜在的干扰因素或基质影响区进行鉴别,RADAR技术验证了其在色谱优化过程中的价值。

参考文献

1. Kellogg RL, Nehring R, Grube A, Goss DW, Plotkin S. Environmental Indicators of Pesticide Leaching and Runoff from Farm Fields. United States Department of Forest Service, (1984). Pesticide Background Statements, Vol. I Herbicides. United States, February 2000.
2. [http://www.epa.gov/oppsrrd1/reregistration/24d/2,4D Re-registration Eligibility Decision](http://www.epa.gov/oppsrrd1/reregistration/24d/2,4D-Re-registration-Eligibility-Decision), Federal Register. 70: 151, August 8, 2005.
3. http://ec.europa.eu/food/plant/protection/evaluation/list_2-4d-d_en.pdf/ 2,4-D, 7599/VI/97-Final, October 1, 2001.
4. Chiras, Daniel D. *Environmental Science* (8th ed.). Jones & Bartlett. p. 499. ISBN 9780763759254, 2010.
5. Schecter A, Birnbaum L, Ryan JJ, Constable JD. Dioxins: An Overview. *Environ. Res.* 101 (3): 419–28, 2006.
6. EEC, Drinking Water Guidelines 98/83/EC, Official Journal of the European Communities no. L330/32, Brussels, 1998.

补充信息

关于本应用所需的补充信息, 请联系应用纪要的作者。



Waters

THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

Waters, ACQUITY UPLC, Xevo, 和 UPLC 为沃特世公司的注册商标。TrendPlot、IntelliStart、Quanpedia、ScanWave、RADAR和The Science of What's Possible是沃特世公司的商标。其他所有商标均归各自的拥有者所有。

©2012年 沃特世公司 中国印制
2012 年 4 月 720004300ZH AG-PDF

沃特世科技(上海)有限公司

北京: 010 - 5209 3866
上海: 021 - 6156 2666
广州: 020 - 2829 6555
成都: 028 - 6554 5999

沃特世中国有限公司

香港: 852 - 2964 1800

免费售后服务热线: 800 (400) 820 2676
www.waters.com