

## 使用超灵敏度的UPLC/MS/MS直接定量分析 饮用水样品中的敌草快和百草枯

Claude R Mallet

沃特世公司（美国马萨诸塞州米尔福德）

### 应用优势

- 洁净的水样可直接进样，无需进行样品提取或浓缩，节省了分析人员的宝贵时间。
- 使用ACQUITY UPLC® BEH C<sub>18</sub>色谱柱进行快速的UPLC®分析，缩短了样品运行时间，提高了实验室效率。
- 在100 µL直接进样条件下，高灵敏度的Xevo TQ-S可实现出色的痕量定量，甚至在250次样品进样后性能无明显衰减。

### 沃特世解决方案

ACQUITY UPLC

Xevo® TQ-S

ACQUITY UPLC BEH C<sub>18</sub>色谱柱

TrendPlot™ MS软件

### 关键词

敌草快，百草枯，饮用水，Xevo TQ-S，除草剂，联吡啶

### 简介

世界各国的作物保护通常与农药、杀虫剂或除草剂的广泛使用有关。这些农用产品可能对环境有害，并且会影响人类和动物的健康。尽管存在风险，但它们却是全球经济的重要组成部分<sup>1</sup>。例如，除草剂对控制杂草的生长非常重要，如果不抑制杂草可能会使农作物产量下降高达80%<sup>2</sup>。在除草剂家族中，联吡啶被广泛应用于农业以控制阔叶杂草和水生杂草的生长。最常用的联吡啶为敌草快和百草枯。它们占全球市场最大份额，直到最近才被草甘膦超越<sup>3</sup>。由于其用作采收前干燥剂和落叶剂的高效力，敌草快和百草枯被列为具有较高毒性的物质<sup>4</sup>。世界卫生组织（WHO）将这些化合物分类为中等毒性<sup>5</sup>。虽然它们在水中的半衰期为48 h，但有意或无意的摄入可能会对健康产生严重影响。美国环境保护署（U.S. EPA）规定饮用水中敌草快的最大污染浓度为20 ppb，百草枯的目标限度为3 ppb<sup>6</sup>（EPA未作出规定）。欧盟（EU）没有明确规定饮用水中这些化合物的浓度水平，而是继续采用0.1 ppb的限度值<sup>7</sup>。

对联吡啶类除草剂的分析可能存在一定的困难，主要是因为它们是阳离子分子。它们固有的强极性和正电荷使得需要在通过反相色谱分析季胺类物质时使用离子对添加剂。U.S. EPA方法549.2利用反相色谱和离子对对敌草快和百草枯进行分离，并使用UV检测器检测<sup>8</sup>。由于离子对试剂会抑制MS源中的电离，因此通常避免将离子对试剂用于ESI-MS应用中。对于MS应用，HILIC可提供合适的色谱分析，而无需使用离子对试剂<sup>9</sup>。然而，MS灵敏度的最新进展实现了水中痕量污染物的直接分析，并且备受人们青睐。其中免除了费力费时的固相萃取和样品浓缩步骤，这一点非常可取。含水样品的直接进样非常适合于反相色谱，因为样品基质与初始流动相条件类似。而对于HILIC，首先需要使用有机溶剂对水样进行稀释。

实验

敌草快和百草枯标准品均购自Sigma Alrich（美国密苏里州圣路易斯）。HFBA（HPLC级）购自Thermo Scientific（伊利诺伊州罗克福德）。使用MilliQ水制备校准标准品。水样则从自瓶装水和自来水收集。季铵盐类除草剂的化学结构和所用MRM条件分别见图1和表1。选择Quanpedia™数据库中存储的MRM跃迁数据用于分析。利用配有ACQUITY UPLC BEH C<sub>18</sub> 2.1 × 30 mm色谱柱的Waters® ACQUITY UPLC系统进行色谱分离。运行方法使用含10 mM HFBA的水/甲醇的1 min线性梯度。利用Xevo TQ-S进行检测。

UPLC条件

- UPLC系统：ACQUITY UPLC
- 运行时间：3.0 min
- 色谱柱：ACQUITY UPLC BEH C<sub>18</sub>  
2.1 × 30 mm, 1.7 μm
- 柱温：25 °C
- 流动相A：10 mM HFBA水溶液
- 流动相B：10 mM HFBA甲醇溶液
- 梯度洗脱：1 min内以线性梯度  
从2%B升至95%B
- 流速：0.6 mL/min
- 进样体积：100 μL

MS条件

- MS系统：Xevo TQ-S
- 电离模式：ESI+
- 毛细管电压：3.0 kV
- 锥孔电压：50.0 V
- 源温度：140 °C
- 脱溶剂气温度：550 °C
- 脱溶剂气：1100 L/hr
- 锥孔气：50 L/hr

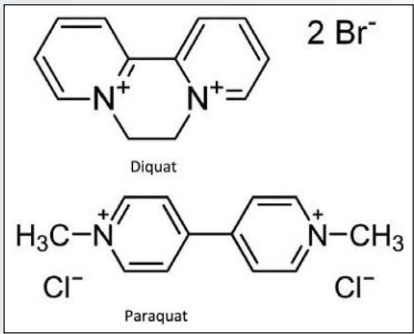


图1. 敌草快和百草枯的化学结构。

除草剂	母离子	产物离子	锥孔电压	碰撞能
敌草快	183.0	157.0	50	20
	183.0	78.0	50	35
百草枯	185.0	170.0	50	20
	185.0	107.0	50	30

表1.敌草快和百草枯的MRM条件。

本应用纪要介绍了使用挥发性离子对试剂（七氟丁酸、HFBA）、RP-UPLC和高灵敏度的Xevo TQ-S，通过直接进样对饮用水中敌草快和百草枯的分析。

## 结果与讨论

结合StepWave™离子光学元件，沃特世Xevo TQ-S在痕量分析中展现出无可比拟的性能。超高的灵敏度可轻松满足相关饮用水中痕量污染物检测的苛刻的样品浓度要求。凭借高水平的灵敏度，通过使用ACQUITY UPLC系统的直接进样技术，洁净水样可在色谱柱上直接预浓缩。如图2所示，敌草快和百草枯在反相柱上获得非常明确的高斯峰形。将图2中的两组纵轴值作比较，显示两种分析物的响应差异。可以发现，尽管百草枯的响应比敌草快低，但两种化合物均达到了所需的定量浓度水平。

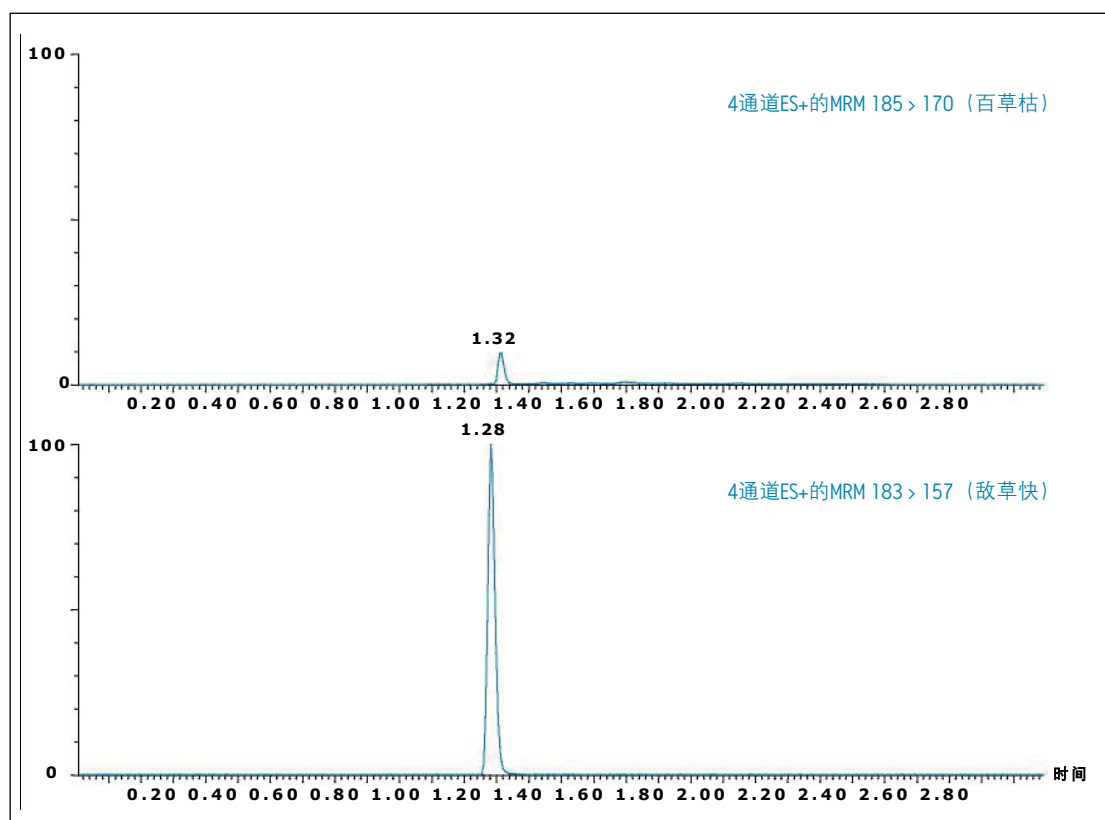


图2. 敌草快和百草枯的反相色谱图 (1 ppb加标)。

## 定量

采用直接进样方案，根据MilliQ水制备的标准品生成的校准曲线进行瓶装水和自来水的定量分析。在本例中，外标校准显示结果良好，并认为没有必要使用内标。如图3所示，用于自来水中敌草快和百草枯分析的校准曲线在50 ppt-100 ppb浓度范围内显示出良好线性，并且敌草快和百草枯的 $r^2$ 值分别为0.997和0.995。加标浓度为1 ppb的回收率见表2，回收率在75%-107%范围内。两种水样中敌草快和百草枯的相对标准偏差（RSD）均低于8%。

除草剂	瓶装水	自来水
敌草快	107.0 (2.6)	75.1 (4.4)
百草枯	99.0 (3.9)	76.5 (6.1)

表2. 瓶装水和自来水在加标浓度为1 ppb时的回收率和变异系数（n=3）。

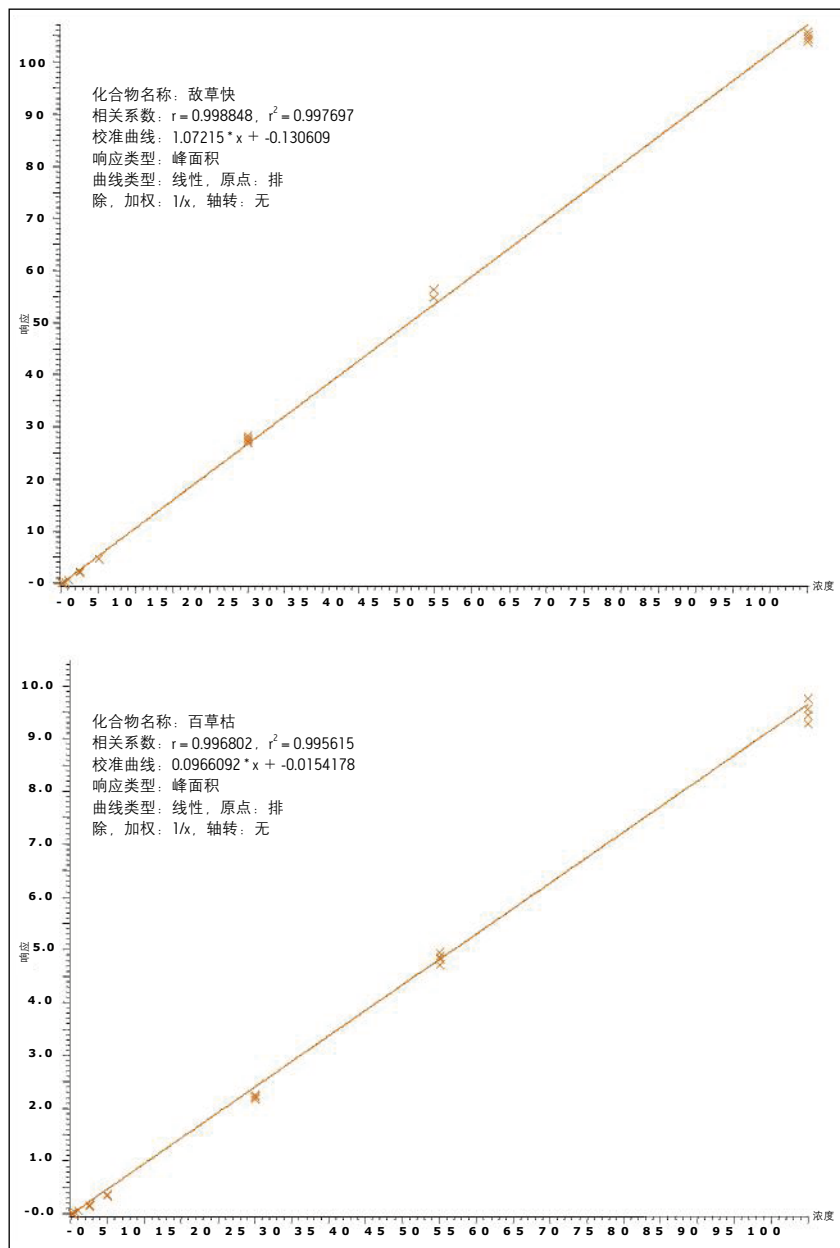


图3A. 敌草快在50 ppt-100 ppb范围内的校准曲线。

图3B. 百草枯在50 ppt-100 ppb范围内的校准曲线。

在本应用中，在流动相（水相和有机相）和样品中均添加了离子对试剂，因此HFBA的纯度非常关键。在方法开发阶段，百草枯的 $185 \rightarrow 170$  m/zMRM跃迁显示出，在百草枯的预期保留时间附近出现干扰。此外，还显示出高背景噪音，使得难以对低于500 ppt的百草枯进行定量。这一问题归因于离子对添加剂，极可能是由于所用的离子对添加剂纯度级别较低。使用较高纯度级的离子对添加剂时，干扰消失，背景噪音降低至满意水平。最终，瓶装水分析的检测限（LOD）达到50 ppt，MRM色谱图见图4。根据定量和确证后的MRM跃迁（图5）计算得出的敌草快和百草枯的离子比率显示标准品和加标样品之间具有良好的相关性，进一步佐证了直接进样方法的适用性。

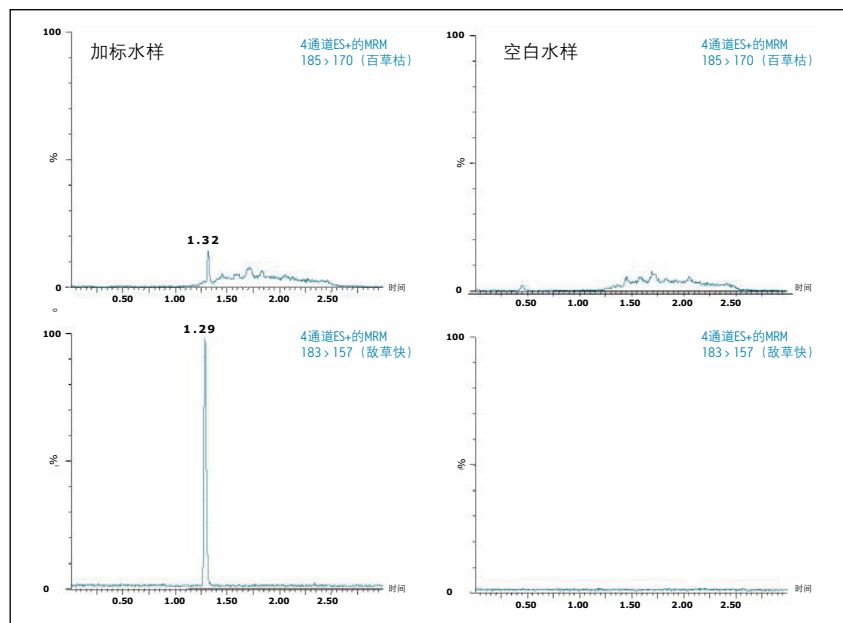


图4. 百草枯和敌草快在50 ppt加标浓度和空白情况下的色谱图 (瓶装水)。

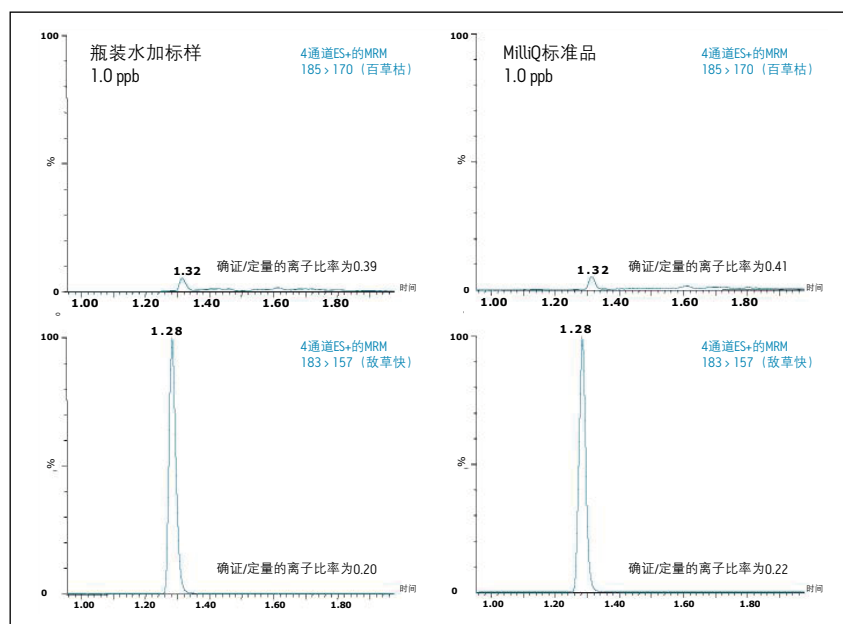


图5. 根据定量和确证MRM跃迁所得的敌草快和百草枯的离子比率。



## 柱使用寿命和耐用性

直接进样方法就速度和易用性而言非常有效。但是该技术在某些情况下具有缺陷，较长时间后这种缺陷可能会影响分析性能。对于未过滤和未经提取样品的重复进样和较大体积进样可能会导致峰变形。在柱使用寿命和耐用性研究中，峰形和柱反压是色谱柱整体性能的理想指示器。在本应用中，如图6所示，敌草快和百草枯在初次进样和第250次进样之间的峰形未显示出明显变形。在第一个样品进样之前，记录的初始色谱柱反压读数为3500 psi。250次自来水样品进样之后，初始色谱柱反压显示读数为3900 psi，增加了400 psi。整个分析过程中主要定量特征仍为目标分析物具有高斯峰形。

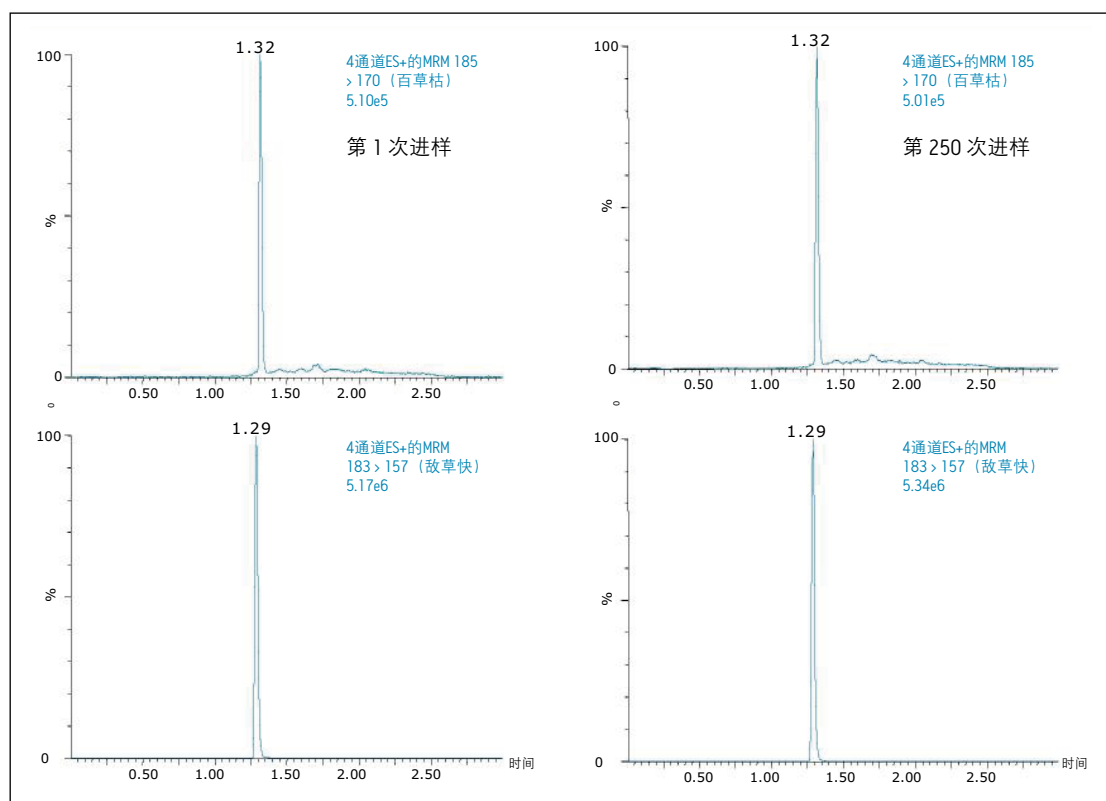


图6. 色谱柱使用寿命研究的MRM色谱图示例。显示了自来水中敌草快和百草枯分析的第1次和第250次进样。

在本应用中，敌草快和百草枯的柱使用寿命色谱图未显示峰变形特征，定量结果的RSD低于5%。因此，自来水样品检测记录中的少量增长的反压对本研究过程中的整体分析性能无影响。敌草快和百草枯的TrendPlot™分析报告如图7所示。由图7可知，TrendPlot显示两种化合物的线性良好，在第100次进样的RSD分别为4.7%和7.5%。

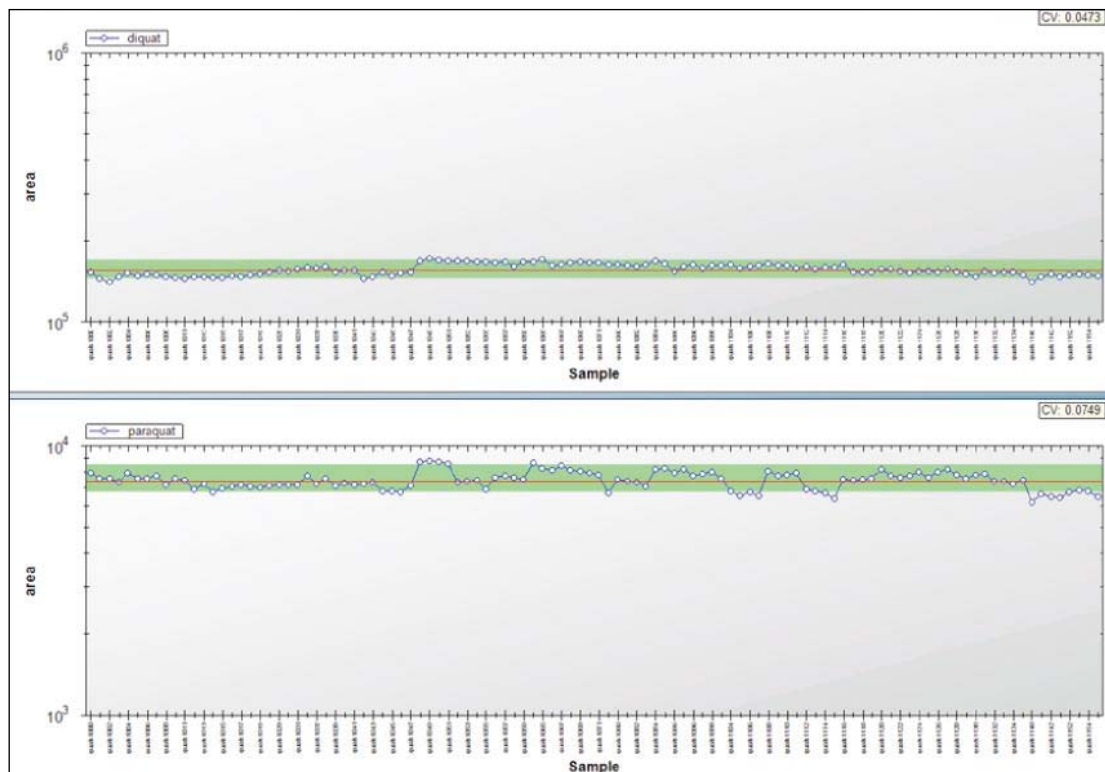


图7. 自来水中敌草快和百草枯的TrendPlot分析。

## 结论

本应用纪要中，利用ACQUITY I-Class UPLC系统和Xevo TQ-S质谱仪分析自来水和瓶装水中的敌草快和百草枯，证实了直接进样技术的通用性。本研究中的检测限为50 ppt，低于欧盟指令中规定的100 ppt。高灵敏度的Xevo TQ-S可在100 µL的进样量下实现精确定量，且无需在进样前进行样品提取或浓缩。回收率数据显示两种水样的测定结果良好，RSD均低于8%。

## 参考文献

1. J Sherma. J Assoc Off Anal Chem. 80 (1997), p. 283.
2. RL Kellogg, R Nehring, A Grube, DW Goss, S Plotkin. [Environmental indicators of pesticide leaching and runoff from farm fields](#). United States Department of Agriculture Natural Resources Conservation Service. Retrieved on 2010-08-26, February, 2000.
3. Website: [http://www.epa.gov/opp00001/pestsales/07pestsales/market\\_estimates2007.pdf](http://www.epa.gov/opp00001/pestsales/07pestsales/market_estimates2007.pdf), U.S. Environmental Protection Agency, Washington, DC 20460, Pesticides Industry Sales and Usage, February 2011.
4. Website: [www.bt.cdc.gov/agents/paraquat/basics/facts.asp](http://www.bt.cdc.gov/agents/paraquat/basics/facts.asp) Centers for Disease Control, Facts about Paraquat. October 13, 2006.
5. WHO World Health Organization, The WHO Recommended Classification of Pesticides by Hazard and Guidelines to Classification. 1996-1997 WHO, Geneva (1996).
5. Lewis. Drinking Water Health Advisory: Pesticides, US Environmental Protection Agency. Chelsea, MI (1989).
6. EEC, Drinking Water Guidelines 80/779/ECC, ECC no L229/11-29, Brussels, 1980.
7. J W Munch, WJ Bashe. US EPA 549.2. U.S. Environmental Protection Agency, Cincinnati, OH, 1997.
8. K Van Tran, JC Shia, MS Young. Fast and Sensitive UPLC/MS(MS) Determination of Diquat and Paraquat in Drinking Water. [Waters Application Note No. 720004220en](#), May 2012.

# Waters

THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.®

Waters, UPLC, ACQUITY UPLC, Xevo和The Science of What's Possible是沃特世公司的注册商标。Quanpedia、StepWave和TrendPlot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。

©2013 年沃特世公司。印制于中国  
2013年8月 720004770ZH AG-PDF

沃特斯中国有限公司  
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  
香港：852-2964 1800

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

