

唐雪, 李强, 郝红元, 等. 超高效液相色谱/三重四极杆质谱-直接进样分析地表水中硝基酚类化合物[J]. 环境化学, 2020, 39(3): 831-834.
TANG Xue, LI Qiang, HAO Hongyuan, et al. Simultaneous determination of nitrophenols in surface water by ultra high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. Environmental Chemistry, 2020, 39(3): 831-834.



超高效液相色谱/三重四极杆质谱-直接进样分析地表水中硝基酚类化合物

唐雪¹ 李强² 郝红元² 范军² 黄涛宏²

(1. 岛津企业管理(中国)有限公司 成都分析中心, 成都, 610041;
2. 岛津企业管理(中国)有限公司 上海分析中心, 上海, 200030)

摘要 本文建立了一种使用岛津超高效液相色谱仪 Nexera X2 和三重四极杆质谱仪 LCMS-8050 联用直接进样分析水中硝基酚类化合物的方法。本方法可在 5 min 内完成 3 种硝基酚类化合物分析。采用内标法定量, 方法线性范围为 0.1—100.0 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, 相关系数大于 0.998, 各浓度回读值准确度在 85.8%—112.7% 之间。3 个浓度下保留时间和峰面积的相对标准偏差 (RSD%) 分别在 0.10%—0.20% 和 0.85%—3.30% 之间。进样 2.0 μL , 方法检出限在 0.022—0.034 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 之间, 测定下限在 0.088—0.136 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 之间。地表水 3 个不同浓度样品加标回收率在 86.7%—94.5% 之间。残留实验结果为阴性。

关键词 硝基酚, 超高效液相色谱, 三重四极杆质谱, 地表水, LCMS-8050。

Simultaneous determination of nitrophenols in surface water by ultra high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry

TANG Xue¹ LI Qiang² HAO Hongyuan² FAN Jun² HUANG Taohong²

(1. Analytical Application Center Shimadzu (China) Co., LTD, Chengdu, 610041, China;
2. Analytical Application Center Shimadzu (China) Co., LTD, Shanghai, 200030, China)

Abstract: A novel method was developed for the simultaneous determination of nitrophenols in surface water by Shimadzu LCMS-8050 triple quadrupole mass spectrometer. Under the optimized condition, three Nitrophenols could be analyzed within 5 min. The standard curve was drew using Internal standard method. the correlation coefficients were greater than 0.998 in the concentration of 0.1—100 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$. Injection volume was 2.0 μL , Method detection limit was 0.022—0.034 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ and minimum quantitative detection limit was 0.088—0.136 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$. The RSD of retention time and peak area were 0.10%—0.20%, 0.85%—3.30% respectively. Spiked in surface water with three concentrations, the recovery was 86.7%—94.5%. The method has good linearity, precision, recovery and has the advantages of no derivation and simple operation. The method is fit for detecting nitrophenols in surface water.

Keywords: nitrophenols, ultra high performance liquid chromatography, tandem mass spectrometry, surface water, LCMS-8050.

硝基酚类化合物 (Nitrophenols) 常作为原材料或中间体广泛应用于医药和化工等行业, 可伴随工业废水, 排放至环境中。该类物质难降解, 易蓄积, 可对水体或土壤中的生物造成毒害^[1-2]。4-硝基酚和 2,4-二硝基酚被列入美国环境保护署 (EPA) 水环境中优先控制污染物黑名单, 2,4,6-三硝基酚 (苦味酸) 被我国《生活饮用水卫生标准》(GB5749—2006) 和《地表水环境质量标准》(GB3838—2002) 列为必测指标^[3-4]。

目前硝基酚类化合物分析方法主要有气相色谱质谱法 (GCMS)、液相色谱法 (HPLC) 和液相色谱串联质谱法 (LC-MS/MS) 等。GCMS 法需要对样品进行衍生化处理, 操作繁琐费时。HPLC 法通常需要进行固相萃取以富集目标物, 提高灵敏度, 前处理费时费力, 且 HPLC 容易出现假阳性结果。LC-MS/MS 法具有高选择性和高灵敏度的特点, 可以无需富集和衍生化处理, 即可实现硝基酚类化合物的高灵敏度测定^[5]。

本文采用岛津三重四极杆液质联用仪 LCMS-8050, 建立了直接进样分析地表水中 3 种硝基酚类化合物的方法。方法

前处理简单,线性范围宽,快速、灵敏、可靠,适用于水中硝基酚类化合物的分析,有利于提高环境监测工作效率。

1 实验部分 (Experimental section)

1.1 试剂与仪器

标准品:4-硝基酚(1000 mg·L⁻¹于甲醇,购自 o2si),2,4-二硝基酚(1000 mg·L⁻¹于甲醇,购自 o2si),2,4,6-三硝基酚(1000 mg·L⁻¹于乙腈,购自 o2si),2,4-二硝基酚-d3(≥98%,购自 TRC)。流动相试剂:甲醇(质谱级,购自 CNW),甲酸铵(质谱级,购自 Sigma Aldrich),甲酸(质谱级,购自 CNW)。

使用岛津超高效液相色谱仪 Nexera X2 与三重四极杆质谱仪 LCMS-8050 联用系统。具体配置为输液泵(LC-30AD),在线脱气机(DGU-20A₃),自动进样器(SIL-30AC),柱温箱(CTO-20A),系统控制器(CBM-20A),三重四极杆质谱仪(LCMS-8050),LabSolutions 色谱工作站(版本 5.93)。

1.2 超高效液相色谱分析条件

岛津 Nexera X2 UHPLC 色谱柱为 C18 柱(Shim-pack GIST,2.1 mm ×50 mm,2 μm);流动相 A 为 5 mmol·L⁻¹含 0.05% 甲酸的甲酸铵水溶液;流动相 B 为甲醇;流速 0.4 mL·min⁻¹;梯度程序为 0.00 min:60%A,40%B;2.00 min:40%A,60%B;3.00—4.00 min:10%A,90%B;4.01—5.00 min:60%A,40%B;柱温为 40 °C;进样体积 2 μL。

1.3 质谱分析条件

岛津 LCMS-8050 三重四极杆质谱。采用电喷雾离子源(ESI)、负离子检测、多反应监测(MRM)模式进行数据采集;脱溶剂管温度 150 °C;加热模块温度 400 °C;接口电压 1.0 kV;雾化气和干燥气为氮气,流速分别为 3.0 L·min⁻¹和 10.0 L·min⁻¹;加热气为干燥空气,流速 10.0 L·min⁻¹;驻留时间 25 ms;MRM 参数见表 1。

表 1 硝基酚类化合物 MRM 参数
Table 1 MRM parameters of Nitrophenols

序号 No.	化合物名称 Compound name	前体离子 Precursor ion	产物离子 Product ion	Q1 预杆偏差 Q1 pre bias/V	碰撞电压 CE/V	Q3 预杆偏差 Q3 pre bias/V
1	4-硝基酚(PNP)	138.05	108.00*	14.0	19.0	10.0
			92.00	14.0	23.0	12.0
			45.95	29.0	35.0	17.0
2	2,4-二硝基酚(DNP)	183.10	109.00*	12.0	25.0	10.0
			123.05	12.0	19.0	11.0
3	2,4,6-三硝基酚(TNP)	228.05	182.05*	15.0	19.0	17.0
			198.05	10.0	16.0	12.0
4	2,4-二硝基酚-d3(DNP-d3)	186.10	112.10*	12.0	26.0	10.0
			126.05	12.0	19.0	12.0

注: * 代表定量离子对, quantitative ion.

1.4 标准溶液配制

取 3 种硝基酚类化合物混合标准贮备液(100 mg·L⁻¹),以超纯水逐级稀释为 0.1、0.2、0.5、1、2、5、10、20、50、100 μg·L⁻¹的标准系列溶液,再各取 1.0 mL,加入 10 μL 内标使用液,混匀,配制 10 个不同浓度的标准工作溶液。

取内标贮备液(2,4-二硝基酚-d3,5.0 mg·mL⁻¹),以甲醇稀释为 200 μg·L⁻¹的内标使用液。

1.5 样品前处理

使用醋酸纤维滤膜(0.22 μm)过滤地表水样品,取 1.0 mL 滤液于棕色进样瓶中,加入 10 μL 内标使用液,涡旋混匀,待测。

2 结果与讨论 (Results and discussion)

2.1 分析条件优化

最初流动相采用甲醇和水,但峰形前沿。将水相调整为甲酸铵水溶液,峰形对称,但硝基酚类化合物保留弱且响应明显降低。在甲酸铵水溶液中加入甲酸,硝基酚类化合物保留增强且响应提高,但峰形略有拖尾。故综合考虑色谱峰形、灵敏度和保留时间,对流动相组成进行了优化,最终确定流动相为 5 mmol·L⁻¹甲酸铵水溶液(含 0.05% 甲酸)和甲醇。采用岛津 LabSolutions 软件中的 MRM 自动优化功能,可得到优化后的 MRM 参数,操作简单快捷。采用岛津离子源参数自动优化软件,对雾化气、干燥气和加热气的流速、脱溶剂管温度、加热模块温度和离子源接口电压等离子源参数进行了优化。优化后的分析方法简单、快速、灵敏度高、重现性好,适用于硝基酚类化合物的分析。

2.2 线性关系

按照“1.4”配制 10 个不同浓度的标准系列溶液,内标法绘制校准曲线。校准曲线结果见表 2,其中准确度(%)为通过

标准曲线回算的浓度与理论浓度的百分比.可见本方法线性范围宽,线性良好.

表 2 校准曲线参数

Table 2 Parameters of standard curve

化合物名称 Compound name	校准曲线 Standard curve	线性范围 Linearity range/($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	准确度 Accuracy/%	相关系数 <i>R</i> Correlation coefficient
4-硝基酚	$Y=2.5138X+0.0134$	0.1—100.0	85.8—112.7	0.9986
2,4-二硝基酚	$Y=1.9420X+0.0132$	0.1—100.0	90.6—111.6	0.9989
2,4,6-三硝基酚	$Y=1.7930X-0.0086$	0.2—100.0	90.1—109.3	0.9990

注: *Y* 表示峰面积, *X* 表示浓度.

2.3 方法检出限和测定下限

根据《环境监测分析方法标准制修订技术导则》(HJ168—2010)中相关规定进行方法检出限和测定下限的评价.配制浓度为 $0.1\ \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的地表水加标样品,按照“1.5”中的方法平行处理 7 份样品,上机分析.按照方法检出限 (MDL) = $3.143\times S$ (*S* 为标准偏差),测定下限 = $4\times\text{MDL}$ 进行计算.结果见表 3.

表 3 方法检出限和测定下限 ($n=7$)

Table 3 Method detection limit and Limit of determination

名称 Compound name	浓度 Concentration/($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	标准偏差 (<i>S</i>) Standard deviation	方法检出限 Method detection limit/ ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	测定下限 Minimum quantitative detection limit/($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)
4-硝基酚	0.1	0.0084	0.026	0.104
2,4-二硝基酚	0.1	0.0070	0.022	0.088
2,4,6-三硝基酚	0.1	0.0107	0.034	0.136

2.4 精密度实验

配制 3 个不同浓度的硝基酚类化合物混合标准溶液,分别重复分析 6 次,考察仪器的精密度,各化合物保留时间和峰面积的精密度结果如表 4 所示.3 个不同浓度标准样品的保留时间和峰面积的 RSD% 分别在 0.10%—0.20% 和 0.85%—3.30% 之间,仪器精密度良好.

表 4 精密度实验结果 ($n=6$)Table 4 Precision experiment results ($n=6$)

名称	相对标准偏差 RSD% ($1.0\ \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)		相对标准偏差 RSD% ($5.0\ \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)		相对标准偏差 RSD% ($20.0\ \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	
	保留时间 Retention time	峰面积 Area	保留时间 Retention time	峰面积 Area	保留时间 Retention time	峰面积 Area
4-硝基酚	0.17	2.37	0.10	1.49	0.10	0.85
2,4-二硝基酚	0.08	2.88	0.10	1.49	0.10	0.85
2,4,6-三硝基酚	0.20	3.30	0.04	2.60	0.13	1.02

2.5 加标回收实验

取 $990\ \mu\text{L}$ 地表水样品,加入 $10\ \mu\text{L}$ 硝基酚混合标准溶液,配制为 3 个不同浓度的加标样品,按照“1.5”中的方法进行前处理,上机分析.加标回收结果见表 5.地表水样品中 4-硝基酚保留时间处有色谱峰,但低于方法检出限,检出 2,4-二硝基酚,但低于测定下限,未检出 2,4,6-三硝基酚.3 个不同浓度加标回收率在 86.7%—94.5% 之间.方法准确可靠.

表 5 地表水样品加标回收率

Table 5 Recovery of target analytes spiked in surface water

化合物名称 Compound name	测定结果 Sample results/($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	加标回收率 Recovery/%		
		$1.0\ \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	$5.0\ \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	$20.0\ \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$
4-硝基酚	0.024, 低于方法检出限	92.3	90.6	87.8
2,4-二硝基酚	0.024, 低于方法测定下限	94.5	89.7	90.0
2,4,6-三硝基酚	未检出	90.0	86.7	89.9

2.6 残留实验

高浓度加标样品 ($100\ \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) 分析完成后,进样分析空白,考察残留情况.结果表明,硝基酚类化合物检测通道中无明显目标化合物干扰.

3 结论 (Conclusion)

本文建立了一种使用岛津超高效液相色谱仪 Nexera X2 和三重四极杆质谱仪 LCMS-8050 联用测定水中硝基酚类化合物的方法. 方法分析速度快, 5 min 内完成分析. 方法灵敏度高, 直接进样 2 μL , 方法检出限在 0.022 — 0.034 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 之间, 测定下限在 0.088—0.136 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 之间. 内标法定量, 方法线性范围宽、重复性好、准确度高. 使用本方法测定了地表水样品, 检出 2,4-二硝基酚, 但浓度低于方法测定下限. 本方法简单、快速、灵敏、准确, 适合水中硝基酚类化合物的快速定量检测.

参考文献 (References)

- [1] 吴永民, 李甫, 黄成雨, 等. 含酚废水处理新技术及其发展前景[J]. 环境科学与管理, 2007, 3(3): 150-154.
WU Y M, LI F, HUANG X Y et al. New techniques for treatment of phenol-containing wastewater and prospect of them[J]. Environmental Science and Management, 2007, 3(3): 150-154 (in Chinese).
- [2] 余宗莲, 饶兵, 樊玉清, 等. 废水中硝基酚类化合物生物降解的研究进展[J]. 环境工程学报, 2007, 1(7): 1-9.
YU Z L, RAO B, FAN Y Q et al. Advances in the research on biodegradation of nitrophenols in wastewater[J]. Chinese Journal of Environmental Engineering, 2007, 1(7): 1-9 (in Chinese).
- [3] 中华人民共和国卫生部, 中国国家标准化管理委员会. 生活饮用水卫生标准(GB 5749-2006) [S]. 2006.
Ministry of Health of the PRC, Standardization Administration of China. Standards of drinking water quality (GB 5749-2006) [S]. 2006 (in Chinese).
- [4] 罗碧容, 钱蜀, 潘乐丹, 等. 高效液相色谱-串联质谱法同时测定水中 18 种酚类污染物[J]. 分析测试学报, 2016, 35(8): 974-980.
LUO B R, QIAN S, PAN L D et al. Simultaneous determination of 18 phenols pollutants in water samples by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. Journal of Instrumental Analysis, 2016, 35(8): 974-980 (in Chinese).
- [5] 谢帮华, 闰海全, 周翼容, 等. 直接进样-液相色谱/串联质谱法(LC-MS)测定水中的酚类化合物[J]. 广东化工, 2016, 43(17): 204-206.
XIE B H, YAN H Q, ZHOU Y R, et al. Determination of phenolic compounds in water by direct injection-liquid chromatography/tandem mass spectrometry[J]. Guangdong Chemical Industry, 2016, 43(17): 204-206 (in Chinese).