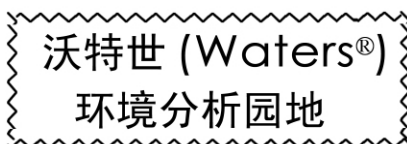


Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™



对环境水体中目标化合物——杀虫剂的快速、灵敏的飞行时间(TOF)筛查

Eleanor Riches James Morphet Paul Silcock Peter Hancock Hilary Major

(英国曼彻斯特 Waters 公司)

飞行时间(TOF)筛查方式技术以其特有的优势,如全扫描数据采集、非预期化合物历史数据再查询等在环境监测领域的应用已经取得了稳步增长。满足全球食品需求,杀虫剂、除草剂和杀真菌剂使用泛滥。这些化学物质施用到庄稼上,将不可避免地污染土壤和河道。因此需要执行严格的环境监察,以保护环境、植物和野生动物,使它们免除由于接触这些化学物质而带来的危害。

为满足保护水质的要求,确保水生态系统的安全,分析人员需要有被监测水体完整的“指纹”图谱。TOF 筛查非常适合这类分析;对污染化合物正确鉴定很重要。在分析数据时,窄质量提取窗的使用,能够降低色谱峰误鉴定的可能性,使错误风险最小化。另外,很多目标关键化合物,很可能以痕量水平存在,而同时其它自然存在的化合物则以非常高的浓度存在,比如来自植物降解物的腐殖酸和棕黄素。这意味着 TOF 仪器必须非常灵敏和准确,以确保有害物质能够正确检测和鉴定,同时在非常低的浓度下,仍能保持精确的质量。

本文使用 Oasis HLB 卡套柱、实施 SPE 清洗和预浓缩,然后在连接 ACQUITY UPLC/Xevo G2 QToF 的系统中进行分析,实现环境水体中多残留广谱杀虫剂筛查。

1 实验部分

1.1 SPE 样品制备

在英国一条河流的排放点,采集污水样品。按 200 mL 等分污水,使用 Oasis HLB SPE 卡套柱萃取污水,常见的 105 种杀虫剂得到富集,得到 200 × 的浓缩液。地表水也采自英国的一条河流,采用类似的程序处理。

样品制备条件 卡套柱: Oasis HLB 30 μm 60 mg/3cc,条件: 2 × 1 mL 甲醇;平衡剂: 2 × 1 mL 水;负荷量: 200 mL 污水样品(< 10 mL·min⁻¹);清洗: 2 × 1 mL 5% 的甲醇水溶液;洗脱液: 2 × 1 mL 甲醇;蒸发: 在氮气吹扫下,将体积由 2 mL 浓缩到 1 mL。

1.2 分析条件

LC 条件 LC 系统: ACQUITY UPLC 系统;运行时间: 2.0 min 或 5.0 min;色谱柱: ACQUITY BEH C₁₈ 1.7 μm , 1 × 50 mm;柱温: 45 °C;流动相 A: 10 mL 1 mol·L⁻¹ 乙酸铵水溶液和 990 mL 水;流动相 B: 10 mL 1 mol·L⁻¹ 乙酸铵水溶液和 990 mL 甲醇;流速: 0.6 mL·min⁻¹;进样体积: 3.0 μL 。表 1 是详细的 UPLC 梯度。

表 1 2 min 和 5 min 快速筛查运行过程的 ACQUITY UPLC 梯度

时间 /min	流速 /(mL·min ⁻¹)	A%	B%	曲线	时间 /min	流速 /(mL·min ⁻¹)	A%	B%	曲线
起始	0.600	98	2	0	起始	0.600	98	2	0
0.10	0.600	98	2	6	0.10	0.600	98	2	6
1.00	0.600	1	99	6	3.75	0.600	1	99	6
1.40	0.600	1	99	6	4.25	0.600	1	99	6
1.41	0.600	98	2	11	4.26	0.600	98	2	11
2.00	0.600	98	2	6	5.00	0.600	98	2	6

MS 条件 MS 系统: Xevo G2 QToF;离子化方式: 阳性 ESI;分析仪: 分辨模式;扫描时间: 0.1 s;毛细管电压: 1.0 kV;采样锥: 30.0;离子源温度: 120 °C;去溶剂温度: 550 °C;去溶剂气体: 1000 L·h⁻¹;锥孔气: 50 L·h⁻¹;质量范围: 50—1000 m/z。

MSE 条件 低能量: 6.0 eV;高能量梯度法: 25.0—35.0 eV。

LockSpray™ 条件 化合物: 亮氨酸脑啡肽;质量: m/z 556. 2771 和 m/z 278. 1141;流速: 20 μL ·min⁻¹;毛细管电压:

3.0 kV; 碰撞能量: 21.0.

2 结果和讨论

样品萃取之后,分析样品萃取物,采用非定向数据采集处理(全扫描) ,提出目标物、定量处理. 利用 POSI ± IVE 软件,处理 5 min 标准筛查获取的数据. 它是将通用的 ChromaLynx™ XS 法与定向的 TargetLynx™ 法有机结合. Waters 化学物质分析 TOF 筛查数据库可用来对目标物快速筛查,建立被筛查离子数据库,目前该数据库包括的化合物超过 630 种.

POSI ± IVE 软件能够使用 TOF 筛查数据库,快速筛查目标化合物是否存在,并给出重要的半定量结论,鉴定出是否阳性. 采用这一方式,大大降低了数据处理和复查的时间.

图 1 是 TargetLynx 结果浏览窗口的示例,展示了流程中的定量部分. 图 2 是 ChromaLynx 鉴定浏览窗口的示例,说明了定性部分. 通过点击图 1 圆圈突出显示的棒形按钮,从 TargetLynx 上能便捷地访问相关的 ChromaLynx XS 数据库. 可将 在定量的 TargetLynx 浏览窗口中显示的单一化合物转移给定性筛查数据库,从而使数据评估方法更高效,用户干预最小化.

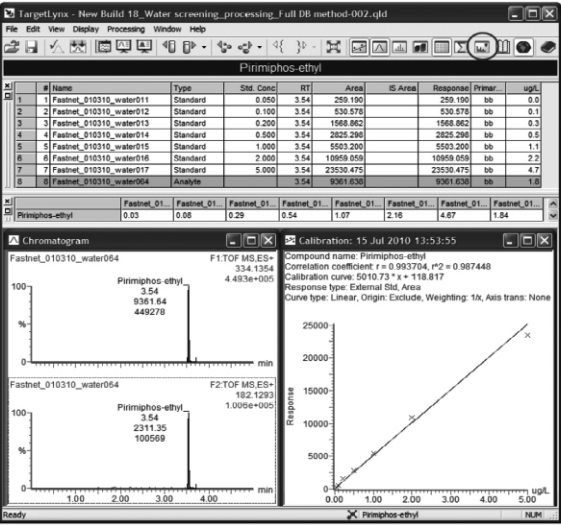


图 1 POSI ± IVE 软件进行污水数据处理过程中的 TargetLynx 定量窗口示例
红圈突出标示的棒状按钮为 ChromaLynx XS 定性窗口

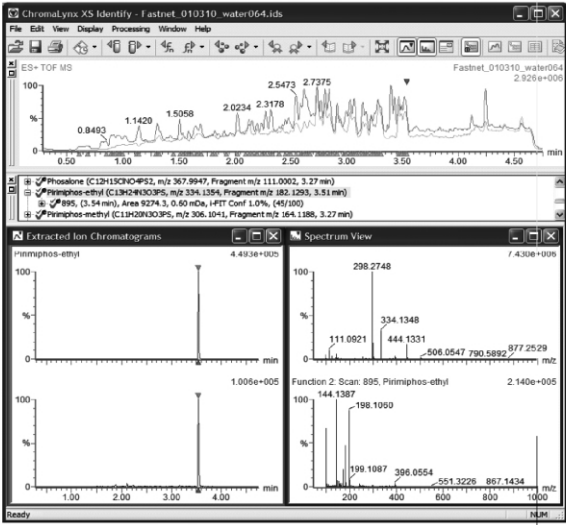


图 2 POSI ± IVE 软件处理污水数据过程的 ChromaLynx XS 浏览窗口示例

在图 2 中,用于鉴定乙基虫螨磷存在的离子,在 Spectrum View 窗口中,突出显示. 前体离子 $[M + H]^+$ 实测的精确质量数是 334.1348 Da,理论计算的精确质量数为 334.1354 Da,两者的差异 ΔM 仅仅为 0.6 mDa. 甚至在分析非常复杂的基质(比如污水中) 时,也是这样. 碎片离子(Spectrum View 窗口中的功能 2) 用于进一步确定该化合物的存在,测量的精确质量数为 182.1285 Da,理论计算的精确质量数为 182.1293 Da,碎片离子的 ΔM 为 0.8 mDa.

杀虫剂在低于 EU 饮用水 100 ng·L⁻¹ 标准的水平甚至在污水基质中,都表明了杀虫剂测量的精确质量数的可靠性和准确性. 105 种杀虫剂的混合物,在污水中浓度提高到 50 ng·L⁻¹. 数据的采集采用非常快速, 2 min 的筛选梯度. 表 2 为计算和测量的精确质量数汇总. 即使目标化合物浓度水平低且在复杂基质中,本方法也能保持高水平的精确质量数测定. 这意味着报告结论的可信度更高. 稳定、可靠以及精确质量数的可重复性,可实现较窄的色谱质量提取窗口,这将减少误测.

表 2 污水中浓度提高到 50 ng·L⁻¹ 的 3 种杀虫剂的精确质量数差异

杀虫剂名	时间/min	流速/(mL·min ⁻¹)	A%
分呋喃	202.0868	202.0861	-0.7
阿特拉通	212.1511	212.1518	0.7
异黄碟呤	360.0517	360.0513	-0.4

采用快速 2 min 筛查梯度采集的数据,在污水中浓度提高到 100 ng·L⁻¹ 105 种杀虫剂组成的混合物中,对非草隆 (m/z 165.1028 Da) 采用越来越窄的质量提取窗口的优势,使质量提取窗更窄,减少了提取离子色谱图中的峰数量,因此简化了样品中非草隆的鉴定工作. 随着 TOF 筛查数据库越来越大,不可避免地存在更多的化合物,能够形成相似精确质量数的前体离子或碎片离子.

TOF 筛查数据库中的 3 种化合物,分别是霜脲氰、氨酚酸钠和灭草隆,具有非常相似的精确质量数前体离子,分别为: m/z 199.0831, m/z 199.0871 和 m/z 199.0638. 提取窗口为 50 mDa 时,从这些化合物的每张色谱图包含的色谱峰来看,这 3 种化合物都有可能存在于杀虫剂的混合物中. 但是,如果色谱提取窗口缩窄到 3.0 mDa,霜脲氰和氨酚酸钠就是误测,当采用 50 mDa 提取窗口,样品中存在的仅有灭草隆. 霜脲氰和氨酚酸钠不在 105 种杀虫剂的混合物中,而混合物中有灭草隆.

利用 MS^E 数据可以进一步减少误测,并大大提高报告结果的可信性, MS^E 数据通常在一个采集过程中获得. MS^E 是一项受专利保护的,不相关联的采集技术,能提供简单而公正的并行路径,从检测组分中,传送准确质量的低能前体离子 (MS) 和高能碎片离子 (MS^E) 的信息,不需要多次进样.

在很多情况下,尤其在杀虫剂的分析中,单独的 MS 分辨率不够高,不能明确鉴定组分. 很多活性组分是结构或光学异构体,因此,这些组分是完全等重的. 在很多情况下,即使具有 UPLC[®] 基线分辨率,也可能不能实现分离,但是高分辨率的色谱可以分离等重组分.

图 3 显示的是叠加在同一数轴上的两种溶剂标准品的提取离子色谱 (XIC). 这说明即使使用 UPLC,但结构如此相似,以至于色谱不能分离. 图 3 中也显示了两种不同化合物的碎片离子图谱. 即使是两同分异构体之间,非常小的结构差异,也可得到不同的碎片离子. 能够看出,某些碎片与西草净或敌草净存在独有的联系,例如图 3 中圈出的 2 种离子. 这可应用 MS^E 数据,以区别 2 种化合物,而此前不能够实现.

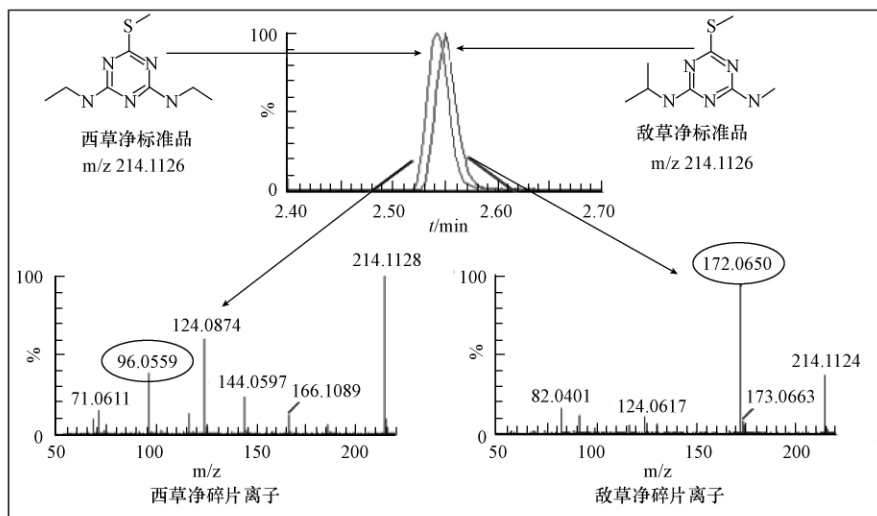


图 3 西草净和敌草净同重、共洗脱,但是具有独特的 MS^E 碎片离子,能够明确鉴定两类物质

3 结论

Xevo G2 QTof 的 MS^E 功能,能够在单次、快速筛查过程中,实现低能量(前体离子)和高能量(碎片离子)数据的采集. MS^E 碎片离子数据能够减少假阳性的出现,实现被测化合物的明确鉴定. 高度的重现性,精准的精确质量数数据,增加了结果准确性的信心. 由于整个色谱峰精确质量数数据的稳定性,利用窄色谱提取窗成为可能,降低了假阳性. 在杀虫剂筛查和化合物的明确鉴定中,POSI $\pm$ IVE 软件是强有力的定性和定量数据处理方法. 针对水样分析中的污染物筛查,带有 POSI $\pm$ IVE 软件的 Xevo G2 QTof 系统,提供了快速可靠的筛查途径,减少了人为干预,使筛查流程更加高效,节约时间.