

LC-MS/MS 法测定水中 6 种邻苯二甲酸酯类物质作业指导书 (SOP)

■ 参考标准

生态环境部《水质 邻苯二甲酸酯类化合物的测定 液相色谱 - 三重四极杆质谱法（征求意见稿）》

■ 方法概述

2.1 方法编制说明

2019 年 11 月，生态环境部发布了《水质 邻苯二甲酸酯类化合物的测定 液相色谱 - 三重四极杆质谱法（征求意见稿）》，制定了水中 6 种邻苯二甲酸酯类物质的 LC-MS/MS 分析方法。本 SOP 参考该标准，利用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 和三重四极杆质谱仪 LCMS-8045 联用建立了 6 种邻苯二甲酸酯类物质的仪器分析方法，并对实际水样（地表水）进行了分析和方法学验证。

2.2 方法使用范围

本方法适用于采用液相色谱 - 串联质谱法（LC-MS/MS）测定地表水、海水、工业废水和生活污水中 6 种邻苯二甲酸酯类物质，包括邻苯二甲酸二甲酯（DMP）、邻苯二甲酸二乙酯（DEP）、邻苯二甲酸丁基苄基酯（BBP）、邻苯二甲酸二丁酯（DBP）、邻苯二甲酸（2-乙基己基）酯（DEHP）、邻苯二甲酸二正辛酯（DNOP）等。

2.3 方法技术指标

本方法的定量限：DMP 0.58 $\mu\text{g/L}$ ，DEP 0.41 $\mu\text{g/L}$ ，BBP 0.94 $\mu\text{g/L}$ ，DBP 3.50 $\mu\text{g/L}$ ，DEHP 4.03 $\mu\text{g/L}$ ，DNOP 3.03 $\mu\text{g/L}$

本方法标准溶液线性范围：DMP、DEP、BBP 1~500 $\mu\text{g/L}$ ；DBP、DEHP、DNOP 5~500 $\mu\text{g/L}$

■ 方法原理

以乙腈为溶剂萃取水中的邻苯二甲酸酯类化合物，用高效液相色谱 - 三重四极杆质谱法分离检测。根据保留时间和特征离子定性，内标法定量。

■ 仪器设备及辅助设备

4.1 仪器设备

岛津 LCMS-8045 三重四极杆液相色谱质谱联用仪，ESI 离子源

4.2 辅助设备

分析天平：Shimadzu AP135W；

马弗炉；

涡旋仪：Talboys；

玻璃微量注射器：10 μL ，50 μL ，100 μL ，1000 μL

■ 标准品、试剂、耗材

6 种邻苯二甲酸类物质标准品及氘代内标：购自上海安谱实验科技股份有限公司（表 5）；

水：超纯水或质谱级纯水

甲醇：色谱级

乙腈：色谱级；

正己烷：色谱级；

丙酮：色谱级
 甲酸：质谱级；
 氯化钠：≥ 99.5%
 氢氧化钠：优级纯
 盐酸：优级纯
 玻璃离心管：25 mL
 玻璃注射器：2 mL
 磨口棕色玻璃采样瓶：125 mL
 微孔过滤膜：聚偏二氟乙烯针头滤器 0.22 μm；
 铝箔

■ 操作步骤

6.1 标准工作曲线制作

6.1.1 混合标准中间溶液配制

微量注射器精确量取购买的混合标准溶液 (2000 mg/L, 正己烷), 注入微量注射器精确量取的丙酮中, 混匀, 得到 40 mg/L 的标准中间溶液。于 4°C 以下冰箱中冷藏密封避光保存, 使用时取出, 放至室温, 有效期 2 个月。

6.1.2 内标使用液配制 (0.1 mg/L)

取 10 mg 内标纯品, 用 4 mL 正己烷溶解, 配制成 2500 mg/L 的内标单标储备液。精密量取 6 种内标储备液混合, 用丙酮稀释成 10 mg/L 的内标使用液。于 4°C 以下冰箱中冷藏密封避光保存, 使用时取出, 放至室温, 有效期 2 个月。

6.1.3 标准工作溶液配制

取混合标准中间溶液, 用乙腈逐级稀释成 500、200、100、50、20、10、5、2、1 μg/L 的标准系列溶液 (表 1), 取 990 μL 标准系列溶液, 加入 10 μL 0.1 mg/L 内标使用液, 配制成标准工作溶液 (表 2) 待测。标准工作溶液现配现用。

表 1 标准系列溶液配制

步骤	母液浓度 / μg/L	母液取用量 / mL	乙腈稀释用量 / mL	最终浓度 / μg/L
1	40000	0.05	3.95	500
2	500	1.6	2.4	200
3	200	2.0	2.0	100
4	100	2.0	2.0	50
5	50	1.6	2.4	20
6	20	2.0	2.0	10
7	10	2.0	2.0	5
8	5	1.6	2.4	2
9	2	2.0	2.0	1

表 2 标准工作溶液配制

标准系列溶液浓度 / μg/L	内标使用液浓度 / mg/L	标准系列溶液添加量 / μL	内标使用液添加量 / μL	标准工作溶液浓度 / μg/L	标准工作溶液内标浓度 / μg/L
1	10	990	10	1	100
2	10	990	10	2	100

5	10	990	10	5	100
10	10	990	10	10	100
20	10	990	10	20	100
50	10	990	10	50	100
100	10	990	10	100	100
200	10	990	10	200	100
500	10	990	10	500	100

6.2 仪器条件

由于邻苯二甲酸酯类物质广泛存在于塑料管路中，为去除流动相及系统管路中的本底干扰，需在混合器与自动进样器之间加装延迟色谱柱。

液相色谱条件

分析色谱柱：Shim-pack GIST C18, 50 mm x 2.1 mm I.D., 2 μm

延迟色谱柱：InertSustain C18, 30 mm x 4.6 mm I.D., 5 μm

流动相：A：0.2% 甲酸水；B：甲醇

流速：0.4 mL/min

进样体积：5 μL

柱温：40°C

洗脱方式：梯度洗脱（表 3）

表 3 液相梯度时间程序

Time(min)	%B
0.00	10
2.00	10
13.00	100
16.00	100
16.20	10
18.00	STOP

质谱条件

离子源：ESI (+)

接口电压：4.0 kV

雾化气：氮气 3.0 L/min

干燥气：氮气 10 L/min

加热气：空气 10 L/min

碰撞气：氩气 230 kPa

DL 温度：230°C

加热模块温度：400°C

接口温度：300°C

扫描模式：MRM（表 6）

6.3 样品前处理

1) 相关试剂及材料准备：1、0.4 g/mL 氢氧化钠溶液配制：称取 40 g 氢氧化钠溶于 100 mL 纯水中；2、盐酸溶液配制：量取 100 ml 盐酸，缓慢加入到 100 ml 纯水中；3、氯化钠：氯化钠放入坩埚，置于马弗炉中于 450°C 灼烧 4 小时，冷却后装入磨口玻璃瓶中并用铝箔纸封口，置于干燥器内贮存。保存期不应超过两周；4、实验用到的所有玻璃器皿及针式过滤器用乙腈清洗 3-5 次，晾干即用。

2) 样品采集与保存：按照 HJ/T 91、HJ/T 164 和 GB 17378.3 的相关规定进行水样的采集与保存。水样

充满采样瓶，如果水样 pH 值不在 5~7 之间，需用氢氧化钠溶液或盐酸溶液将水样 pH 调节至 5~7，采样瓶用铝箔纸封口，4°C 以下冷藏、避光保存，7 天内完成分析。

- 3) 取样：取调节 pH 后的样品 10 mL 置于 25 mL 玻璃离心管中，加入内标使用液 50 μL。
- 4) 加入 4 g 氯化钠，混匀。
- 5) 移取 5 mL 乙腈于离心管中，涡旋（3000 rpm）混匀 1 min，静置 5 min。
- 6) 取上层清液 1 mL 过滤，置于进样小瓶中，待测。

6.4 加标试样

取 10 mL 超纯水作为空白试样，分别加入 12 mg/L、4 mg/L、400 μg/L 标准溶液 10 μL，涡旋混合均匀，配成高、中、低浓度加标试样，以下同样品前处理方法。

6.5 测定

按照 6.2 的仪器分析条件进行分析，进样量为 5 μL，若检测溶液中的浓度超过本方法的标准曲线范围，应适当减少取样量或将水样稀释后取样，按照 6.3 重新制备样品并测定。

6.6 计算和报告

6.6.1 定性分析

按照表 6 中确定的离子对进行监测，试样中目标组分的保留时间与标准样品中该组分的保留时间的相对偏差的绝对值应小于 2.5%；且对待测样品中各组分定性离子的相对丰度 (K_{sam}) 与浓度接近的标准溶液中对应的定性离子相对丰度 (K_{std}) 进行比较，所得偏差在表 4 规定的最大允许偏差范围内，则可判定为样品中存在对应的待测物。

表 4 离子丰度比允许偏差

定性离子相对丰度	允许的相对偏差
> 50%	±20%
> 20% ~ 50%	±25%
> 10% ~ 20%	±30%
≤ 10%	±50%

6.6.2 定量分析

目标化合物经定性鉴别后，根据定量离子的峰面积，用内标法单离子对定量测定。样品中目标化合物的质量浓度按下式计算：

$$\rho_i = \frac{\rho_{li} \times V_l}{V} \times D$$

其中：

ρ_i —— 样品中目标化合物 i 的质量浓度，μg/L；

ρ_{li} —— 从标准曲线上查得的试样中目标化合物 i 的质量浓度，μg/L；

V_l —— 试样的体积，mL；

V —— 水样体积，mL；

D —— 水样稀释倍数

■ 质量控制

7.1 空白分析

每 20 个样品或每批次 (≤ 20 个样品 / 批) 至少测定一个实验室空白，其测定结果应低于方法检出限。每批样品进样前应分析一个溶剂空白，确保目标物出峰位置无干扰。

7.2 校准

每批样品应绘制标准曲线，相关系数应 ≥ 0.995 ，否则重新绘制标准曲线。

每 20 个样品或每批次样品 (≤ 20 个样品 / 批) 应测定 1 个标准曲线中间浓度点标准溶液，其测定结果与该点浓度的相对误差应在 $\pm 20\%$ 以内，否则，须重新绘制标准曲线。

7.3 平行样

每 20 个样品或每批次 (≤ 20 个样品 / 批) 至少测定 1 个平行样，平行双样测定结果的相对偏差应 $\leq 30\%$ 。

7.4 基体加标

每 20 个样品或每批次 (≤ 20 个样品 / 批) 至少测定 1 个基体加标样。基体加标回收率应在 $70\% \sim 140\%$ 之间。

表 5 标准品信息

No.	化合物名称	英文名称	CAS 号	标液浓度 (mg/L)
1	邻苯二甲酸二甲酯	DMP	131-11-3	2000
2	邻苯二甲酸二乙酯	DEP	84-66-2	2000
3	邻苯二甲酸丁基苄基酯	BBP	85-68-7	2000
4	邻苯二甲酸二丁酯	DBP	84-74-2	2000
5	邻苯二甲酸 (2-乙基己基) 酯	DEHP	117-81-7	2000
6	邻苯二甲酸二正辛酯	DNOP	117-84-0	2000
7	四氘代邻苯二甲酸二甲酯	d4-DMP	-	纯标
8	四氘代邻苯二甲酸二乙酯	d4-DEP	-	纯标
9	四氘代邻苯二甲酸丁基苄基酯	d4-BBP	-	纯标
10	四氘代邻苯二甲酸二丁酯	d4-DBP	-	纯标
11	四氘代邻苯二甲酸 (2-乙基己基) 酯	d4-DEHP	-	纯标
12	四氘代邻苯二甲酸二正辛酯	d4-DNOP	-	纯标

表 6 6 种邻苯二甲酸酯类物质及内标的定量离子对和参考离子对

编号	物质	英文简称	类型	保留时间 (min)	前体离子	产物离子	Q1 pre (V)	CE (V)	Q3 Pre (V)
1	邻苯二甲酸二甲酯	DMP	目标物	8.075	195.1	77.2*	-14	-33	-12
						92.1	-14	-41	-30
2	四氘代邻苯二甲酸二甲酯	d4-DMP	内标	8.075	199.1	81.1*	-22	-34	-12
						96.05	-14	-41	-27
3	邻苯二甲酸二乙酯	DEP	目标物	9.625	223.1	149.05*	-24	-17	-30
						177.1	-15	-8	-10
4	四氘代邻苯二甲酸二乙酯	d4-DEP	内标	9.625	227.2	153.1*	-16	-17	-28
						181.1	-11	-8	-10
5	邻苯二甲酸丁基苄基酯	BBP	目标物	11.861	313.2	91.05*	-22	-25	-27
						149	-15	-13	-13
6	四氘代邻苯二甲酸丁基苄基酯	d4-BBP	内标	11.861	317.2	91.1*	-22	-24	-30
						153.1	-11	-13	-14
7	邻苯二甲酸二丁酯	DBP	目标物	11.869	279.2	149.05*	-20	-13	-26
						205.15	-20	-8	-21

8	四氘代邻苯二甲酸二丁酯	d4-DBP	内标	11.869	283.3	153.1*	-20	-16	-30
						209.15	-20	-8	-20
9	邻苯二甲酸(2-乙基己基)酯	DEHP	目标物	13.870	391.4	167.1*	-14	-13	-15
						149.1	-28	-22	-30
10	四氘代邻苯二甲酸(2-乙基己基)酯	d4-DEHP	内标	13.870	395.4	171.1*	-14	-13	-15
						153.1	-28	-22	-30
11	邻苯二甲酸二正辛酯	DNOP	目标物	14.027	391.4	261.2*	-28	-9	-26
						149.05	-28	-16	-30
12	四氘代邻苯二甲酸二正辛酯	d4-DNOP	内标	14.027	395.4	265.2*	-28	-9	-26
						153.05	-28	-16	-30

* 定量离子

岛津应用云

