

LCMS-8050 定量检测水中硝基酚类化合物

LCMSMS-376

摘要：本文建立了一种使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 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。采用两种前处理方法，地表水直接进样检测，工业废水经酸碱分配净化后进样检测。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 ng/mL，相关系数大于 0.998。三个浓度下保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.10%~0.20% 和 0.85%~3.30% 之间。进样 2.0 μ L，方法检出限在 0.022~0.034 ng/mL 之间，测定下限在 0.088~0.136 ng/mL 之间。地表水和工业废水三个不同浓度样品加标回收率在 86.4%~96.7% 之间。残留实验结果为阴性。

关键词：超高效液相色谱 三重四极杆质谱 硝基酚 地表水 工业废水

硝基酚类化合物 (Nitrophenols) 是一类重要且常用的化工原料，作为原材料或中间体被广泛应用于炸药、医药、杀虫剂、染料、木材防腐剂和橡胶等生产中。伴随工业生产过程，含有该类化合物的废水随之排放至环境中。硝基酚类化合物容易在水体及土壤中残留累积，难以降解，给细菌、微生物、植物及动物造成一定的毒害作用。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。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) 都将 2,4,6-三硝基酚 (苦味酸) 列为必测指标。

本文参考中国环境保护标准《水质 硝基酚类化合物的测定 液相色谱 - 三重四极杆质谱法》(征求意见稿)，采用岛津三重四极杆液质联用仪 LCMS-8050，建立了直接进样法分析地表水中硝基酚类化合物和酸碱分配净化法分析工业废水中硝基酚类化合物的方法。方法前处理简单，快速、灵敏、可靠，有利于提高环境监测工作效率。

实验部分

1.1 仪器

本实验使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 与三重四极杆质谱仪 LCMS-8050 联用系统。具体配置为 LC-30AD \times 2 输液泵，DGU-20A_{SR} 在线脱气机，SIL-30AC 自动进样器，CTO-20A 柱温箱，CBM-20A 系统控制器，LCMS-8050 三重四极杆质谱仪，LabSolutions (Version 5.93) 色谱工作站。

1.2 分析条件

液相色谱条件

色谱柱：Shim-pack GIST 2.1 mm I.D.
 \times 50 mm L., 2.0 μ m

流动相：A 相 - 5mM 甲酸铵水溶液
(含 0.05% 甲酸)；B 相 - 甲醇

洗针模式：进样前后洗针，External only
(进样针外壁清洗)，Rinse Port

流速：0.4 mL/min

柱温：40 $^{\circ}$ C

进样体积：2 μ L

洗针液：甲醇 / 水 = 1:1 (v:v)

洗脱方式：梯度洗脱，B 相初始浓度为 40%，
时间程序见表 1。

表1 梯度洗脱时间程序

Time(min)	Module	Command	Value
2.00	Pumps	Pump B Conc.	60
3.00	Pumps	Pump B Conc.	90
4.00	Pumps	Pump B Conc.	90
4.01	Pumps	Pump B Conc.	40
5.00	Controller	Stop	

质谱条件

离子化模式：ESI，负离子模式

雾化气流速：3.0 L/min

加热气流速：10.0 L/min

接口温度：300°C

DL 温度：150°C

碰撞气：氩气 270 kPa

加热模块温度：400°C

干燥气流速：10.0 L/min

扫描模式：多反应监测 (MRM)

接口电压：1.0 KV

驻留时间：25 ms

MRM 参数：见表 2

表2 MRM参数

No.	中文名称	英文名称	缩写	CAS号	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bias(V)	CE(V)	Q3 Pre Bias(V)
1	4-硝基酚	p-Nitrophenol	PNP	100-02-7	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	2,4-Dinitrophenol	DNP	51-28-5	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	2,4,6-Trinitrophenol	TNP	88-89-1	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	2,4-Dinitrophenol-d3	DNP-d3	93951-77-0	186.10	112.10*	12.0	26.0	10.0
						126.05	12.0	19.0	12.0

*代表定量离子对。

1.3 标准溶液配制

取三种硝基酚类化合物混合标准贮备液（100 mg/L），以超纯水逐级稀释为 0.1、0.2、0.5、1、2、5、10、20、50、100 ng/mL 的标准系列溶液，再各取 1.0 mL，加入 10 μL 内标使用液，混匀待测。

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

1.4 样品前处理

1.4.1 地表水—直接进样法

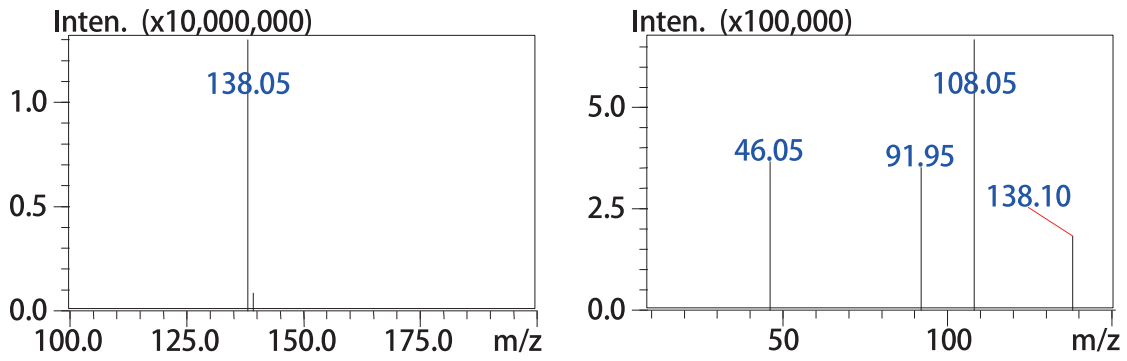
使用醋酸纤维滤膜（0.22 μm）过滤地表水样品，取 1.0 mL 滤液于棕色进样瓶中，加入 10 μL 内标使用液，涡旋混匀，上机分析。

1.4.2 工业废水—酸碱分配净化法

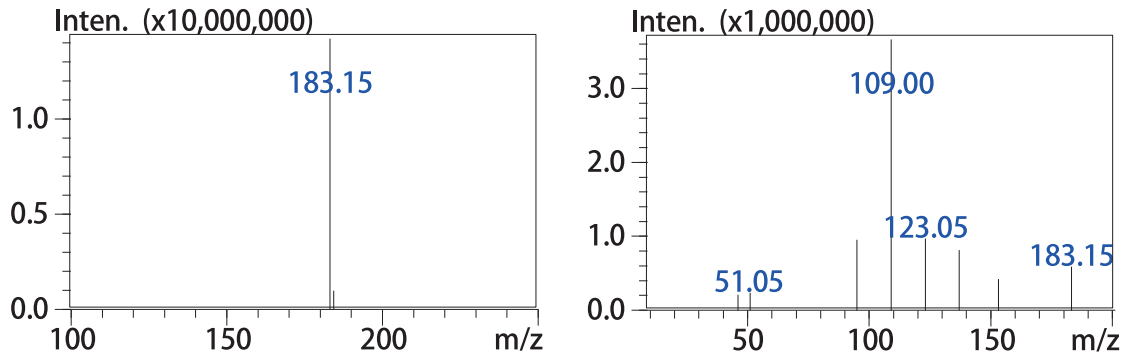
用氨水或甲酸调节样品 pH 值至 7~9，取 5 mL 样品置于具塞离心管中，加入 1 mL 二氯甲烷-正己烷混合溶液，振荡 5 min，以 4000 r/min 的转速离心 5 min。吸取 3 mL 上层水相溶液（有机相在下层），用醋酸纤维滤膜（0.22 μm）过滤，然后取 1.0 mL 滤液于棕色进样瓶中，加入 10.0 μL 内标使用液，混匀待测。

结果与讨论

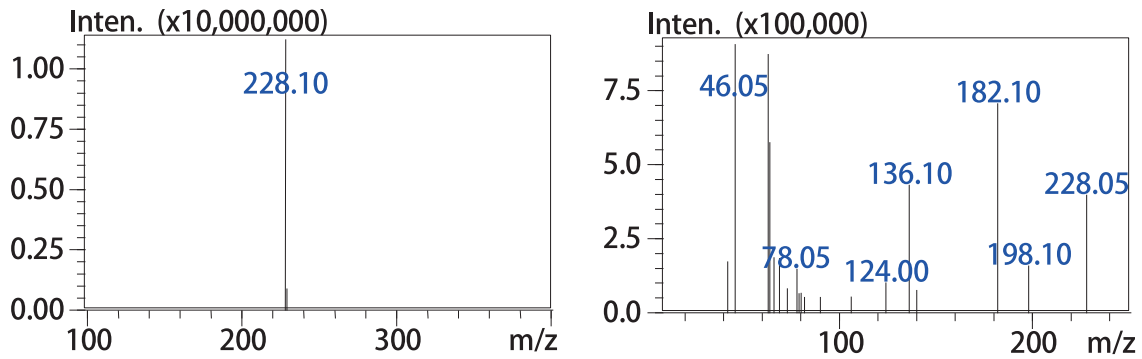
2.1 标准品一级质谱图和产物离子扫描质谱图



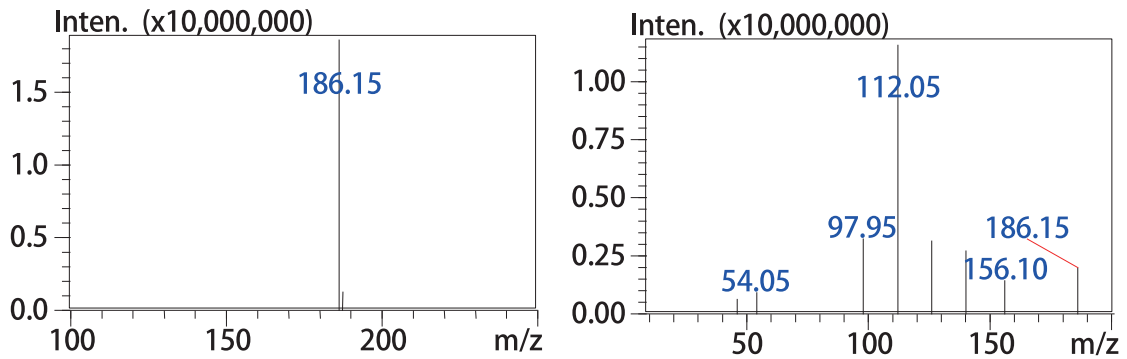
4-硝基酚



2,4-二硝基酚



2,4,6-三硝基酚



2,4-二硝基酚-d3

图1 硝基酚类化合物一级质谱图 (左) 和产物离子扫描质谱图 (右)

2.2 线性关系

按照 1.3 配制十个不同浓度的标准系列溶液，按照 1.2 中的分析条件进行测定，以浓度为横坐标，峰面积为纵坐标，内标法绘制标准曲线。各化合物标准曲线见图 2，线性关系结果见表 3。

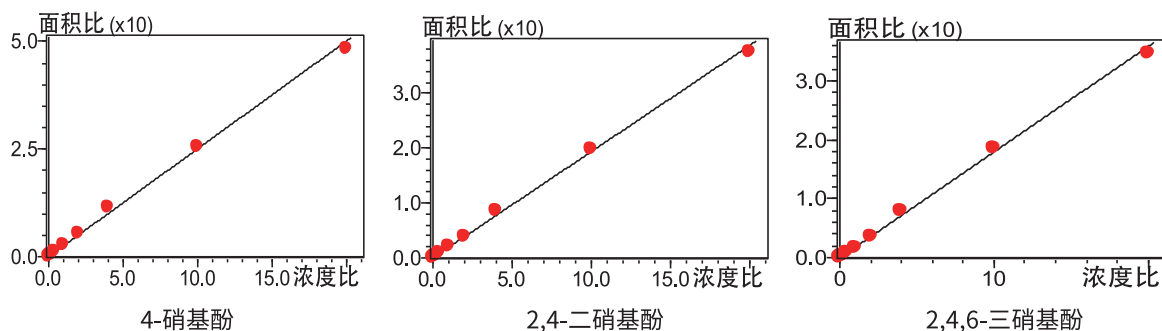


图2 硝基酚标准曲线

表3 线性关系

名称	校准曲线	线性范围(ng/mL)	准确度(%)	相关系数 r
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

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)中的检出限试验方法，针对多组分分析方法，大于 50%被分析物样品加标浓度在检出限 2 ~ 5 倍范围内，大于 90%被分析物样品加标浓度在检出限 1 ~ 10 倍范围内，进行 7 次平行测定，方法检出限 (MDL)= $3.143 \times S$ (S 为标准偏差)，测定下限为 4 倍 MDL。配制浓度为 0.1 ng/mL 的加标样品，按照 1.4 中的方法平行处理七份样品，上机分析。按上述方法评价方法检出限和测定下限，结果见表 4，典型色谱图见图 3。

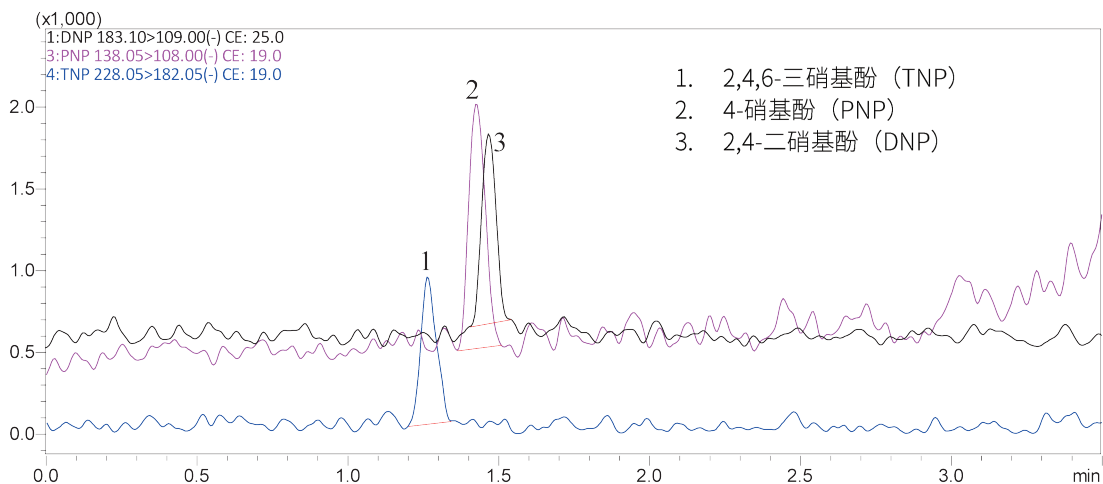


图3 0.1 ng/mL的加标样品色谱图

表4 三种硝基酚方法检出限和测定下限 (n=7)

No.	名称	浓度 (ng/mL)	标准偏差(S)	方法检出限 (ng/mL)	测定下限 (ng/mL)
1	4-硝基酚	0.1	0.0084	0.026	0.104
2	2,4-二硝基酚	0.1	0.0070	0.022	0.088
3	2,4,6-三硝基酚	0.1	0.0107	0.034	0.136

2.4 精密度实验

对三个浓度的混合标准溶液连续 6 次进样，考察仪器的精密度，保留时间和峰面积的精密度结果如表 5 所示。三个浓度标准品的保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.10~0.20% 和 0.85~3.30% 之间，仪器精密度良好。

表5 精密度结果 (n=6)

名称	RSD% (1.0 ng/mL)		RSD%(5.0 ng/mL)		RSD% (20.0 ng/mL)	
	R.T.	Area	R.T.	Area	R.T.	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 μ L 地表水样品，加入 10 μ L 硝基酚混合标准溶液，配制为三个不同浓度的加标样品，按照 1.4 中的方法进行前处理，上机分析。取工业废水 4.95 mL，加入 50 μ L 硝基酚混合标准溶液，配制为三个不同浓度的加标样品，按照 1.4 中的方法进行前处理，上机分析。用超纯水代替样品，除不加内标外，其他程序同样品前处理，制得全程序空白样品。全程序空白样品色谱图、地表水和工业废水样品及加标样品色谱图见图 4~ 图 9。加标回收结果见表 6。直接进样法和酸碱分配净化法的全程序空白均未检出硝基酚类化合物，对定量测定不会产生干扰。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。工业废水样品中未检出三种硝基酚。三个不同浓度下加标回收率在 86.4%~96.7% 之间。2,4,6-三硝基酚 MRM 检测通道 0.3 min 处色谱峰不干扰测定。

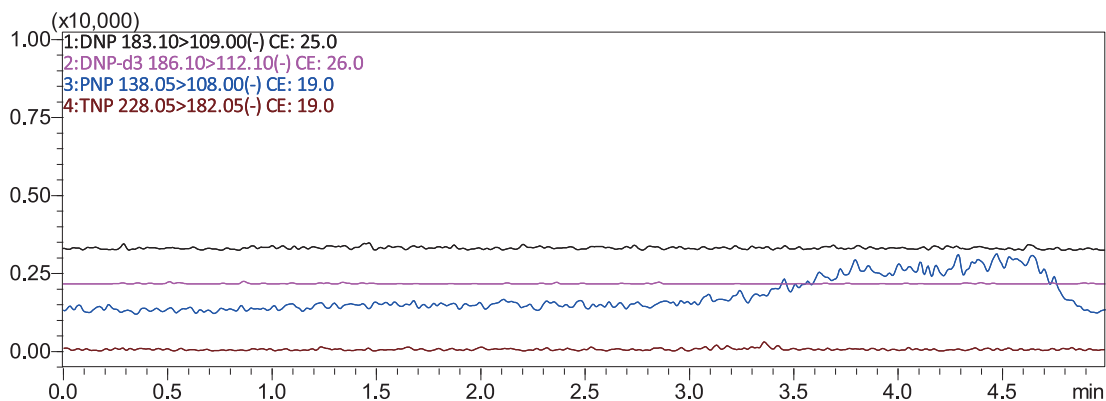


图4 全程序空白 (直接进样法)

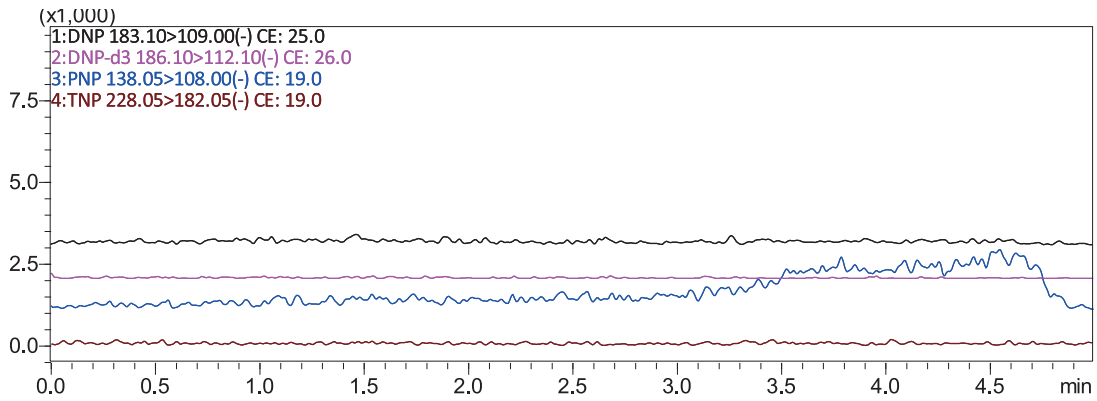


图5 全程序空白 (酸碱分配净化法)

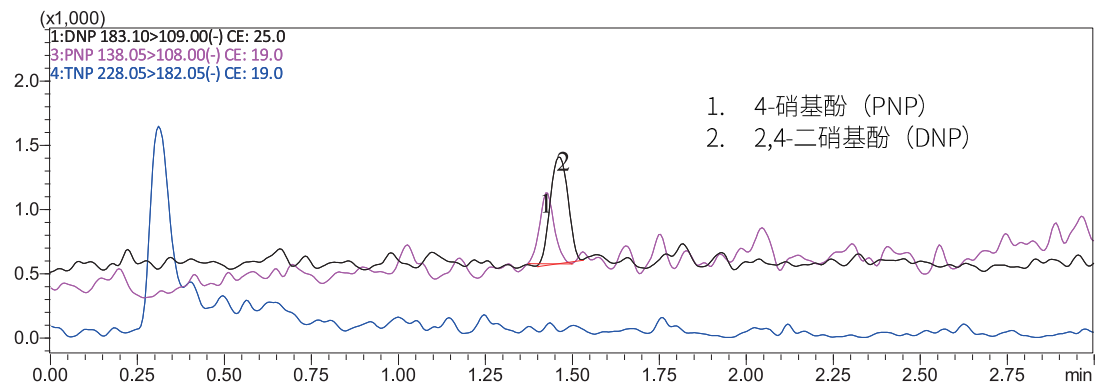


图6 地表水样品

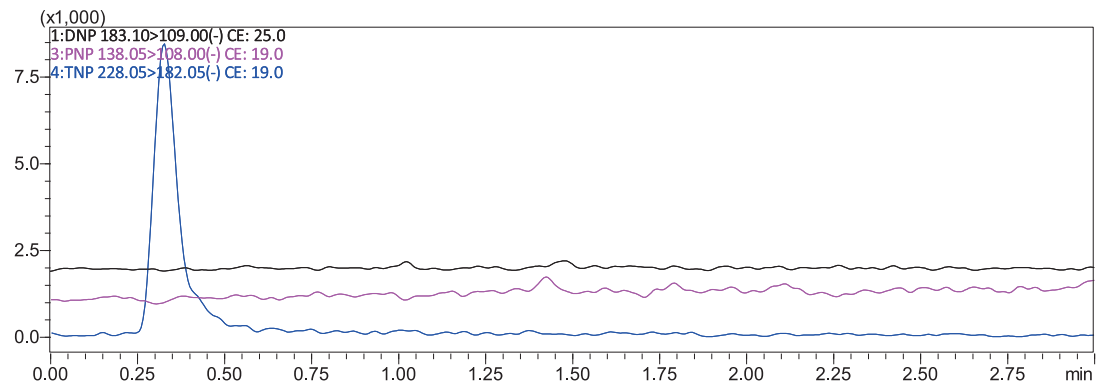


图7 工业废水样品

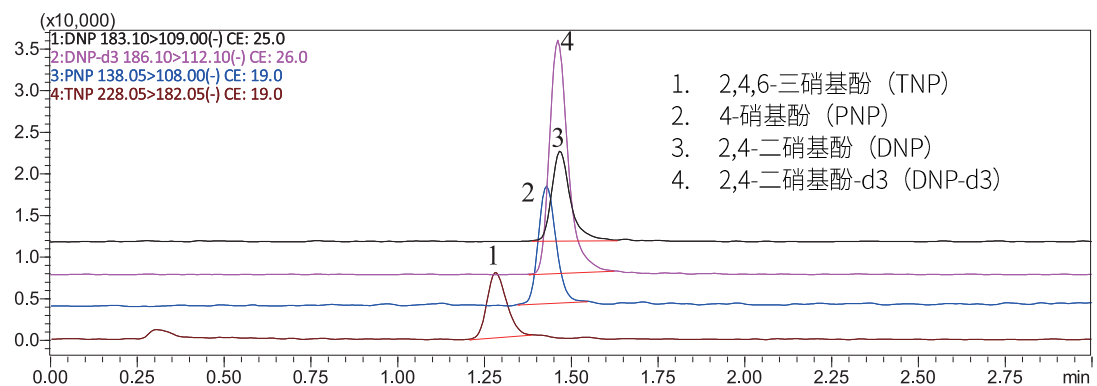


图8 地表水样品加标 (1.0 ng/mL)

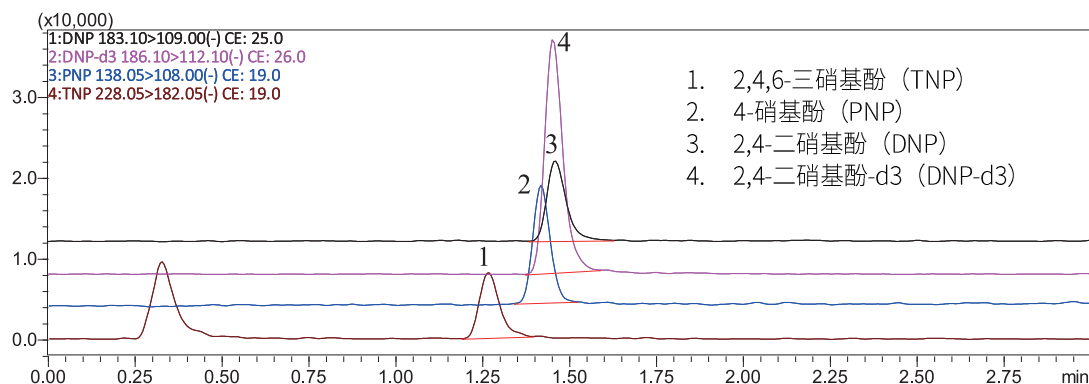


图9 工业废水样品加标 (1.0 ng/mL)

表6 样品加标回收率

样品名称	化合物名称	样品测定结果 (ng/mL)	回收率 (%)		
			1.0 ng/mL	5.0 ng/mL	20.0 ng/mL
地表水	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, 低于方法定量限	94.5	89.7	90.0
	2,4,6-三硝基酚	未检出	90.0	86.7	89.9
工业废水	4-硝基酚	未检出	92.4	92.1	95.4
	2,4-二硝基酚	未检出	90.2	88.9	95.5
	2,4,6-三硝基酚	未检出	87.0	86.4	96.7

2.6 残留实验

高浓度加标样品 (100 ng/mL) 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。

结论

本文建立了一种使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 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。本方法可在 5 min 内完成三种硝基酚类物质分析。进样 2 μ L, 方法检出限在 0.022 ~ 0.034 ng/mL 之间, 测定下限在 0.088 ~ 0.136 ng/mL 之间。内标法定量, 方法线性范围宽、重复性好、准确度高, 优于标准要求。使用本方法测定了地表水和工业废水样品, 地表水中检出 2,4-二硝基酚, 但浓度低于方法定量限, 工业废水中未检出三种硝基酚类化合物。本方法简单、快速、灵敏、准确, 可用于水质硝基酚类化合物的定量检测。