

超高效液相色谱 – 三重四极杆质谱仪检测环境水中联苯胺和 3,3-二氯联苯胺

LCMSMS-313

摘要： 本实验使用岛津 Nexera XR 和 LCMS-8045 系统建立了环境水中联苯胺和 3,3-二氯联苯胺的检测方法。本文采用 MRM 监测方法，首次建立了联苯胺和 3,3-二氯联苯胺的 LCMSMS 快速检测方法。本方法具有较宽的线性范围 (0.39-6.25 μg/L)、较好的重复性 (2.80%-5.94%)、较好的回收率 (91%-98%) 和较高的检测灵敏度。与 EPA605 记录的电化学方法相比，本方法用于河水和污水检测时具有更好的选择性，可排除 ECD 的假阳性问题。

关键词： LCMSMS 联苯胺 3,3-二氯联苯胺 污水 河水

联苯胺和 3,3-二氯联苯胺 (DCB) 是重要的颜料中间体 (图 1)。它们用于颜料黄 12、13、14、17、35、55、颜料橙 13 和颜料红 38 等中高档双芳胺类偶氮颜料的合成。由于双芳胺类偶氮颜料较好的耐溶性能和耐迁移性能，且具有很好的抗结晶性和热稳定性，同时具有比单偶氮颜料高一倍的着色强度、色泽鲜艳且价格低廉，因而在油墨、塑料、橡胶、涂料和染料等行业应用广泛。例如颜料黄 17，因为它们着色力强和透明性好，是高透明性印刷油墨难以替代的着色剂。目前全世界总产量 24 万吨 / 年，其中颜料黄系列达 25%，DCB 需求量 2.5 万吨 / 年，由于欧、美、日等国对环保的要求较高，该类染料已停止在上述区域生产，几乎全部由我国生产。

联苯胺和 DCB 具有强烈的致癌作用。美国环保署颁布发布标准方法，“EPA Method 605”，以电化学为检测器，可实现该物质的高灵敏度检测。但环境水样

较为复杂，尤其是污水样品，容易出现假阳性检测结果。此外，联苯胺和 DCB 容易在进样器中残留，干扰测试结果的准确性和重复性。质谱 (MS) 可提供化合物质量信息 (分子离子信息及碎片信息)，增加化合物定性的准确度。三重四级杆独特的 MRM 模式，以化合物的特定碎片离子定性和定量，增加定量、定性准确性，最大程度排除检测结果的假阳性。本文将岛津超高效液相色谱仪 Nexera XR 与三重四极杆质谱仪 LCMS-8045 联用，采用 MRM 模式，建立联苯胺和 DCB 的快速定量方法，并用于地表水和污水中联苯胺和 DCB 的检测和定量。同时以 SIL-30AC 为自动进样器，该进样器可提供针内、外同时清洗，且采用 SL 进样方式 (split loop, 进样后进样针位于流路中、持续冲洗的进样方式)，以期实现联苯胺和 DCB 的低残留分析、检测。

实验部分

1.1 仪器

LC-20ADXR (高压二元泵)，SIL-30ACMP (自动进样器)，CTO-20AC (柱温箱)，CBM-20A (系统控制器)；LCMS-8045 (三重四极杆质谱仪) 配 ESI 电离源；LabSolutions Ver5.86 (色谱工作站)。

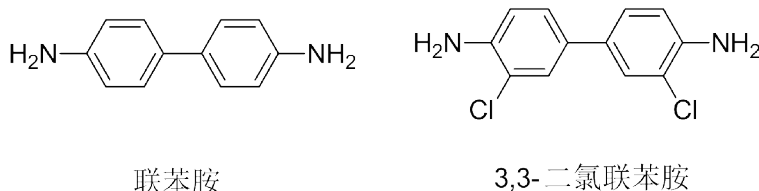


图1 联苯胺和DCB结构

1.2 样品信息

对照品溶液：分别称取联苯胺 (benzidine, 购自 Sigma, CAS #: 92-87-5) 和 DCB(3, 3-dichlorobenzidine, 购自 Sigma, CAS #: 91-94-1) 对照品, 用乙腈配制成 1 mg/L 的母液备用。取母液适量, 用 0.1% 甲酸水溶液 (甲酸:水, 1:1000, v/v) 逐级稀释、配制成浓度为 50、25、12.5、6.25、3.13、1.56、0.78、0.39、0.185、0.093 和 0.046 $\mu\text{g/L}$ 的对照品溶液。

重复性：浓度为 6.25、3.13 和 1.56 $\mu\text{g/L}$ 样品重复进样 7 针。

实际样品：取样品, 过 0.22 μm 聚四氟乙烯滤膜后分析。实际样品包括：湖水 (1#)、河水 (2# 和 3#)、污水 ((4#、5# 和 6#))。

加标回收：取 50 $\mu\text{g/L}$ 对照品母液 100 μL , 用 0.1%FA 水稀释到 1 mL (对照); 取 900 μL 样品, 加入 100 μL 0.1%FA 水溶液 (样品); 取 900 μL 样品, 加入 100 μL 50 $\mu\text{g/L}$ 对照品母液 (加标样品)。回收率 = ((A 加标样品 - A 样品) / A 对照) \times 100%。A: 目标化合物峰面积。

1.3 分析条件

液相条件

色谱柱: Phenomenex Kinetex C8

(2.1 x 150 mm, 2.6 μm)

流动相: A-0.05%FA 水溶液; B-0.05%FA- 乙腈

柱温: 30 $^{\circ}\text{C}$

梯度: 0-1.5 min 5%-95%B; 1.5-3.9 min 95%B;

3.9-4.0 min 95%-5%B; 4.0-6.5 min 5%B

流速: 0.3 mL/min

进样体积: 10 μL

进样清洗: 外部清洗 (进样前后清洗)

质谱条件:

离子源: ESI, 正模式

雾化气流速: 3.0 L/min

干燥气流速: 10 L/min

驻留时间: 100 ms

接口温度: 400 $^{\circ}\text{C}$

MRM 参数: 见表 1

DL 温度: 200 $^{\circ}\text{C}$

接口电压: 4.0 kV

表1 MRM参数

No.	名称	英文名称	CAS No.	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bias (V)	CE(V)	Q3 Pre Bias (V)
1	联苯胺	benzidine	92-87-5	185.3	168.1*	-10.0	-20.0	-28.0
				185.3	151.0	-14.0	-30.0	-25.0
2	DCB	3,3-dichlorobenzidine	91-94-1	253.2	182.1*	-27.0	-30.0	-19.0
				253.2	154.0	-20.0	-50.0	-29.0

*表示定量离子

结果与讨论

2.1 分析条件优化

联苯胺和 DCB 灵敏度受色谱柱、梯度和流速影响较大。以 Kinetex C8 (2.1x150 mm, 2.6 μm) 为固定相, 目标物灵敏度比某品牌 C18 柱高 10 倍。与以 0.3 mL/min 为流速相比, 以 0.4 mL/min 为流速, 联苯胺的响应增加大约 68%, 但 DCB 的响应降低约 70%。联苯胺的灵敏度增加来源于高流速产生的尖锐峰型, DCB 的灵敏度降低源于流速对雾化效率的影响。本实验采用陡梯度 (0-1.5 min, 5-95% 梯度压缩)、0.3 mL/min 流速为两种分析物同时获得较高响应。

DCB 的碎片离子中, m/z 217.0 的响应较高, 其次是 m/z 182.1 和 154.0, 但 m/z 217.0 通道在陡梯度下, 基线噪音较高。因此, 选择 m/z 182.1 和 154.0 做定量离子和参比离子。

2.2 工作曲线、LOD 和 LOQ

取 1.2 所述各浓度对照品溶液，按照 1.3 所述分析条件进行测定（如图 2）。用 ASTM 法，以 LOD 浓度目标化合物 S/N 不小于 3，LOQ 浓度 S/N 不小于 10 为标准，测得本方法中联苯胺的 LOD 为 0.046 $\mu\text{g/L}$ (S/N:4.3)，LOQ 为 0.093 $\mu\text{g/L}$ (S/N: 10.5)；DCB 的 LOD 为 0.185 $\mu\text{g/L}$ (S/N:5.17)，LOQ 为 0.39 $\mu\text{g/L}$ (S/N:10.5)。满足 EPA 605 对测试联苯胺 (LOD 不高于 0.08 $\mu\text{g/L}$) 和 DCB (LOD 不高于 0.20 $\mu\text{g/L}$) 方法灵敏度的要求。以待测样品大致浓度为中心，取 5 个浓度点 (0.39-12.5 $\mu\text{g/L}$)，以浓度为横坐标，目标化合物峰面积为纵坐标，外标法制作工作曲线，所得标准曲线见图 3。各组分线性回归方程及相关系数见表 2。结果表明各组分在考察浓度范围内线性关系良好，R 大于 0.999，各标准点准确度在 95-105% 之间。

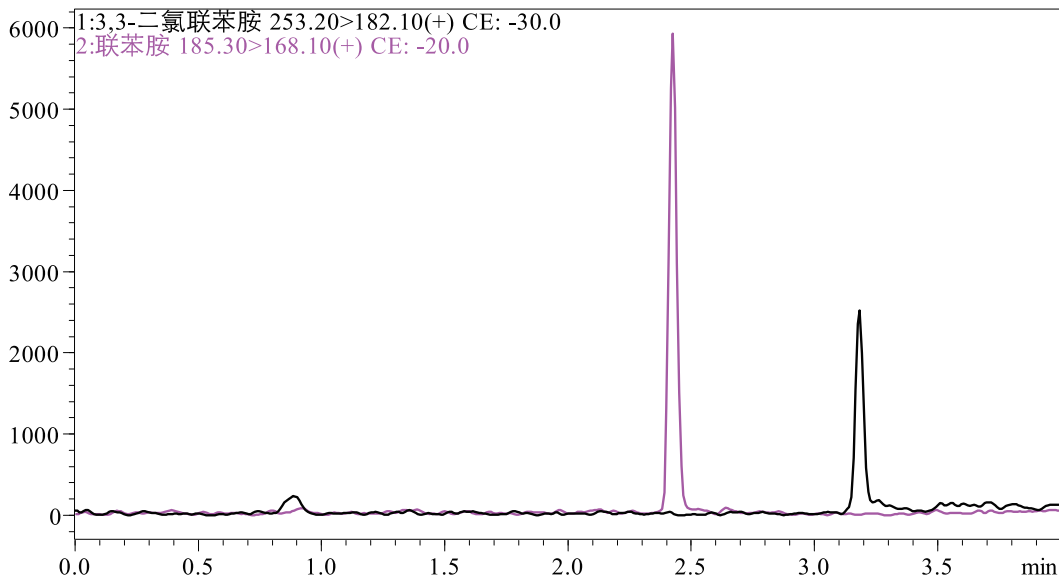


图2 联苯胺和DCB色谱图

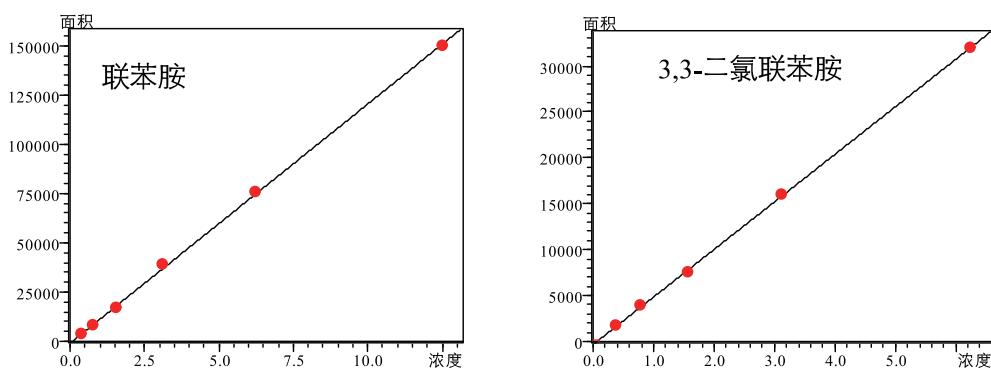


图3 联苯胺和DCB工作曲线

表2 各组分工作曲线及相关系数

No.	名称	线性范围 ($\mu\text{g/L}$)	线性方程	相关系数	精准度 (%)
1	联苯胺	0.39-12.5	A=11787.1 C-204.9	0.9998	95.7-103.5
2	DCB	0.39-6.25	A=3486.2 C-220.6	0.9994	96.1-104.5

2.3 重复性

取浓度为 1.56、3.13 和 6.25 $\mu\text{g/L}$ 的标准溶液，平行进样 7 针，计算目标化合物的峰面积和保留时间相对标准偏差 (RSD%) 如表 3 所示。分析结果表明，三个浓度下两种目标化合物的保留时间和峰面积的相对标准偏差在 0.02~0.41% 和 2.80~5.94% 之间，可以满足定量分析的需求。

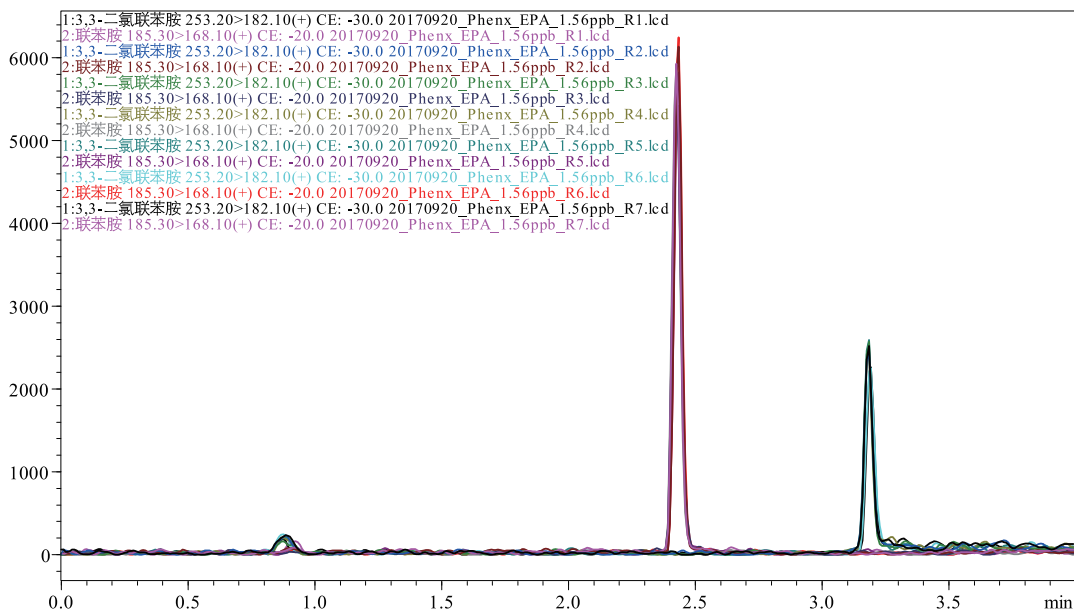


图4 浓度为1.56 $\mu\text{g/L}$ 联苯胺和DCB对照品重复分析图(n=7)

表3 各组分的仪器重复性考察结果(n=7,%)

	联苯胺			DCB		
	1.56 $\mu\text{g/L}$	3.13 $\mu\text{g/L}$	6.25 $\mu\text{g/L}$	1.56 $\mu\text{g/L}$	3.13 $\mu\text{g/L}$	6.25 $\mu\text{g/L}$
保留时间%RSD	0.15	0.41	0.19	0.15	0.13	0.019
峰面积比%RSD	3.69	5.94	3.22	3.69	2.84	2.80

2.4 样品测试和回收率

在实际样品分析中，本实验还考察了滤膜对联苯胺和 DCB 的吸附。实验结果表明，水膜和尼龙膜对这两种化合物具有明显的吸附，使用聚四氟乙烯材质滤膜吸附较小。

在色谱条件和样品处理条件优化后，将本方法用于湖水 (1#)、河水 (2# 和 3#) 和污水 (4#、5# 和 6#) 中联苯胺和 DCB 的检测。部分样品的色谱图如图 5 所示，检测结果如表 4 所示。从表 4 数据可知，所有样品中均无 DCB 检出，但有明显的联苯胺检出，且污水中联苯胺的含量高于地表水 (湖水和河水) 含量，表明所采水样均受到联苯胺不同程度的污染。根据 EPA605 的要求，考察加标 5 $\mu\text{g/L}$ 的实际样品回收率。以 1# 样品为基质，测得回收率为 98.3%；以 5# 样品为基质，测得回收率为 91.5%。

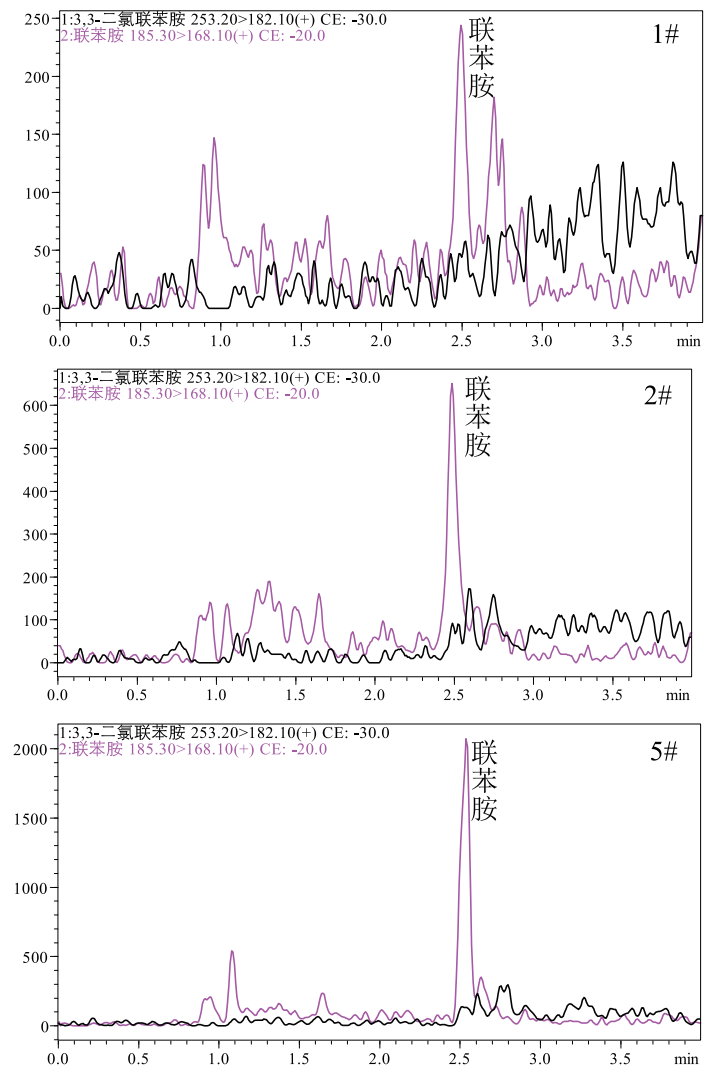


图5 污水(5#)、湖水(1#)和河水(2#)图

表4 实际样品测试结果

样品名称	联苯胺浓度 (μg/L)	DCB (μg/L)
1# (湖水)	检出	-
2# (河水)	0.45	-
3# (河水)	0.73	-
4# (污水)	1.18	-
5# (污水)	1.20	-
6# (污水)	1.11	-

检出：响应在LOD附近；-：未检出

■ 结论

本文使用岛津 Nexera XR 和 LCMS-8045 建立了地表水和污水中联苯胺和 DCB 的同时定量检测方法。该方法具有较好的灵敏度、重复性、回收率和较宽的线性范围。灵敏度和重复性满足且优于 EPA 605 要求，可用于地表水和污水中联苯胺和 DCB 的检测。