

环境

TriPlus™ RSH EQuan 850 系统与 Orbitrap Exploris™ 120 质谱仪联用简化环境水样中新污染物的定量分析

作者

Jonah Toth¹, Marco Pineda¹,
Viviane Yargeau¹, Maciej Bromirski²

¹McGill University, Montréal, Canada

²Thermo Fisher Scientific, Warsaw, Poland

关键词

新污染物、PFAS(全氟和多氟烷基物质)、
农药、药品、环境监测、在线样品前处理、
TriPlus RSH EQuan 850 系统、Orbitrap
Exploris 质谱仪

目标

通过在 Thermo Scientific™ TriPlus™ RSH EQuan 850 系统上进行在线固相萃取 (SPE) 和使用 Thermo Scientific™ Orbitrap Exploris™ 120 质谱仪进行痕量定量, 评估和展示对环境水样中新污染物进行简单快速分析的潜力。

简介

液相色谱串联质谱 (LC-MS/MS) 由于其强大的定性和定量能力, 越来越被认为是分析环境水样中新污染物的主要方法。高分辨 (HRAM) 质谱仪技术的快速发展使研究人员能够以更高的灵敏度和分辨率对各种新污染物进行多残留分析。特别是四极杆-Orbitrap 联用仪, 如 Orbitrap Exploris 120 质谱仪, 能够进行一级离子全扫描, 然后进行数据依赖的 MS/MS 采集 (FS-ddMS²), 从而通过单次进样获得样品全组分高分辨率一级离子扫描和目标分析物的 MS/MS 二级碎片定性确认。

尽管在水样中对新污染物进行 LC-MS/MS 分析的关注度很高, 但进样前的样品制备往往被忽视。在分析环境水样时, 样品制备通常是必要的, 以去除基质干扰并选择性地预浓缩目标分析物。这个过程不仅通常成本高且耗时, 而且不恰当样品制备最终会影响后续 LC-MS/MS 分析的数据质量。

固相萃取（SPE）是一种常用的技术，用于清除基质干扰并在环境水样中预浓缩分析物。然而，传统的离线 SPE 劳动强度大、耗时且效率低下。该过程需要在每次加载大量水样前后，在一次性萃取柱中使用大量有机溶剂。传统的 SPE 不仅需要付出大量的经济和环境成本，而且还因人为实验过程差异引入了大量系统误差。

相比之下，在线 SPE 使用 TriPlus RSH EQuan 850 系统将前处理流程自动化，能够提高效率、改善可靠性，并显著减少劳动力和材料投入。TriPlus RSH EQuan 850 系统使用一个小型可重复使用的 SPE 柱进行在线加载小体积（通常 <5 mL）的环境水样，然后通过 LC 泵输送选择性溶剂进行洗脱。与 LC-MS/MS 方法联用时，在线 SPE 的应用可以轻松高效地提高分析样品通量。

在这份技术说明中，我们利用 TriPlus RSH EQuan 850 系统上的在线 SPE 与 Orbitrap Exploris 120 质谱仪联用，对环境水样中的各种新污染物进行分析，展示了一种快速简化的工作流程。我们展示了一种经过验证的多农残检测方法，并讨论了新污染物分析的另外两种应用，包括如全氟和多氟烷基物质（PFAS）以及非法药物。此外我们还进行了完整的方法学验证，以证明方法的定量能力与可靠性，包括精度、定量限和基质效应。

实验

本文所述的农药方法涉及在线固相萃取和通过 LC-MS/MS 进行痕量定量，该方法已被详细报道和讨论过。¹

一种通过加速溶剂萃取（ASE）——也称为加压液体萃取（PLE）——从沉积物样品中提取农药残留的方法也已开发，以补充上述在线 -SPE-LC-MS/MS 方法。²

应用这些方法于从加拿大魁北克省圣皮埃尔湖附近农业相邻溪流中采集的现场样本的研究已发表。³

样品制备

为了在在线 SPE 之前去除任何碎屑或大颗粒，从小型农业邻近溪流中收集的水样通过亲水性玻璃纤维预过滤器过滤，孔径为 1.0 µm，使用 Fisher Chemical™ Hyflo™ Supercel™ 过滤助剂。

仪器方法

表 1. 配件及耗材

组件	参数
在线 SPE	- TriPlus RSH EQuan 850 系统
	- Thermo Scientific™ 不锈钢在线过滤器 (0.2 µm)
	- Waters™ Oasis™ HLB 直接连接 HP 柱 (2.1 mm × 30 mm, 20 µm)
液相色谱	- Thermo Scientific™ Vanquish™ 四元上样泵
	- Thermo Scientific™ Vanquish™ 二元洗脱泵
	- Thermo Scientific™ Viper™ 不锈钢毛细管
分析柱	- Thermo Scientific™ Hypersil GOLD™ C8 柱 (2.1 mm × 50 mm, 1.9 µm)
	- Thermo Scientific™ Accucore™ aQ 极性封端 C18 柱 (2.1 mm × 150 mm, 2.6 µm)
离子源	- Thermo Scientific™ EASY-IC™ 加热电喷雾离子源
质谱仪	Orbitrap Exploris 120 质谱仪
数据分析	Thermo Scientific™ TraceFinder™ 5.1 软件

在线固相萃取

样品上样体积 1 mL，上样溶液为体积比 0.1% 甲酸溶于 98:2 水 - 甲醇（体积比）的混合溶液，流速 2.000 mL/min。经过在线过滤器后，使用亲水 - 亲脂平衡（HLB）柱进行样品净化和预浓缩。切换阀配置如图 1 所示。

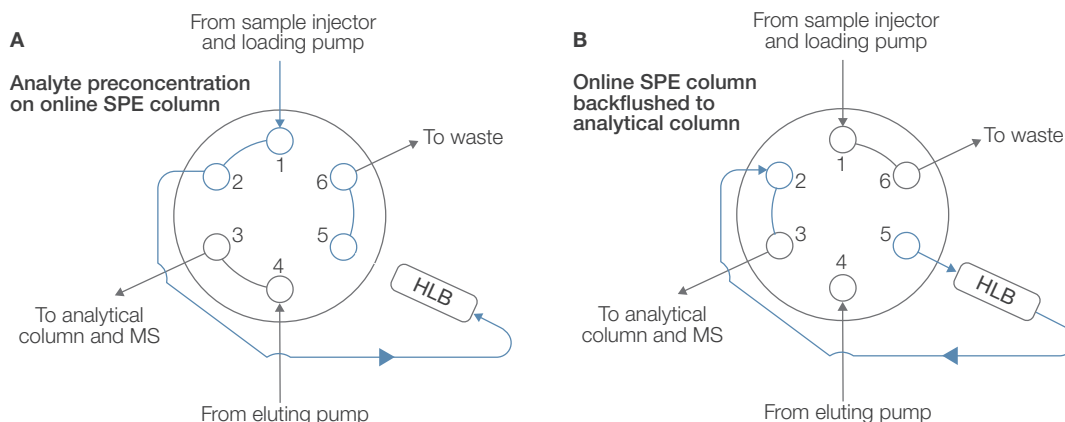


Figure 1. (A) In the loading position of the valve (1 → 2), the sample is injected and carried with the loading solution for preconcentration on the online SPE column; (B) In the eluting position of the valve (1 → 6), the online SPE column is backflushed by the eluting pump and analytes are eluted to the analytical columns for chemical separations.

在 5 分钟的转移时间内，分析物在在线 SPE 柱上被预浓缩，洗脱基质成分以减少干扰，分析物被洗脱泵反冲出柱并转移到分析柱进行液相色谱分离。

化学分离

为了优化目标农药列表中异构化合物之间的化学分离，串联使用了两根分析柱：Thermo Scientific™ Hypersil GOLD™ C8 柱 (2.1 mm × 50 mm, 1.9 μm) 和 Thermo Scientific™ Accucore™ aQ 极性封端 C18 柱 (2.1 mm × 150 mm, 2.6 μm)。两根分析柱均加热至 40.0 °C ± 0.5 °C。

为了实现从在线 SPE 柱的解吸和在分析柱上的化学分离，设计了溶剂 A (Milli-Q™ 水中含有 50 mM 甲酸铵和 0.1% v/v 甲酸) 和溶剂 B (甲醇中含有 0.1% v/v 甲酸) 的梯度。考虑到 5 分钟的转移时间，总方法持续时间为 20 分钟。

质谱

Orbitrap Exploris 120 质谱仪在极性切换模式下运行，使用 +3,500 V 和 -2,500 V 的毛细管电压。使用加热电喷雾离子源，质谱分析以 60,000 (FWMH) 分辨率和 60% 射频 (RF) 透镜的全扫描开始，然后进行数据依赖的 MS² (dd-MS²) 扫描，分辨率为 15,000 FWHM，使用动态排除和目标质量优先列表。正离子模式下对强度前 3 的离子进行 dd-MS² 扫描，使用 20%、40% 和 70% 的阶梯碰撞能量，负离子模式下对强度前 2 的离子的 dd-MS² 扫描，阶梯碰撞能量 15%、35%、60%。

数据分析

使用 TraceFinder 5.1 软件进行定性和定量分析。靶向数据库包含了目标农药的前体离子、产物离子、同位素峰形以及保留时间

信息，依据以上信息可自动完成目标物的鉴定和定量，其中质量容差 ± 5 ppm，保留时间窗口 0.5 分钟。离子碎片比和同位素模式的匹配进一步确认了目标分析物。

结果与讨论

使用 Thermo Scientific™ 仪器进行这些方法的应用，为研究人员在分析水样中的新兴污染物时带来了许多好处，包括更高的时间效率、减少耗材需求以及提高样品分析和分析物定量的可靠性。

显著节省时间

在放置好样品并编制好进样序列后，TriPlus RSH EQuan 850 系统可以自动进行在线 SPE 和所有相关的样品处理。样品可以连续分析而不会有任何延迟——并且除了偶尔监控外，不需要研究人员的任何干预。

相比之下，进行手动 SPE 是劳动密集型的，并且在整个过程中需要不断的监控，从调节小柱和加载样品到清洗小柱和洗脱目标分析物。即使在手动 SPE 过程完成后，提取物通常也需要在 LC-MS/MS 分析之前进行吹干和复溶，这需要更多的时间和精力。

手动 SPE 过程每个样品可能需要数小时，而 TriPlus RSH EQuan 850 系统允许研究人员将分析时间缩短到几分钟。图 2 展示了通过在线 SPE 分析单个样品的潜在节省的时间。在线 SPE 方法的总运行时间仅为 20 分钟，可以在 24 小时内分析多达 72 个样品，而手动 SPE 处理 12 个样品就需要耗费整整一天。

在线 SPE 的自动化特性还减少了在过程中引入不必要错误的风险，包括 SPE 小柱干燥的风险以及与手动 SPE 小柱流不一致带来的麻烦。

减少耗材需求

除了显著减少研究人员所需的时间和精力外，在线 SPE 还是一种“更环保”的处理方式，减少了耗材需求。这直接节约了实验室的成本。

在使用在线 SPE 方法的诸多优点中，或许最显著的是节省了一次性 SPE 小柱的成本。

在手动 SPE 过程中，这构成了成本的很大一部分，产生了最多的废弃物，同时也极大地影响了前处理效率——特别是在处理大量样品时。相比之下，单个在线 SPE 柱能够承受数百次的萃取过程，将洗脱、上样和平衡吸附剂直接集成到方法中，相对于一次性使用的 SPE 小柱节省了高达八倍的成本。

图 3 显示了使用 TriPlus RSH EQuan 850 系统的在线 SPE 柱与一次性使用 SPE 柱相比的其他潜在优势。

此外，在线 SPE 减少了在提取阶段所需的溶剂体积。考虑到上样泵的流速为 2.000 mL/min，洗脱泵的流速为 0.250 mL/min，此方法每个样品总共需要 14 mL 的溶剂。相比之下，手动 SPE 程序在整个过程中可能消耗超过 50 mL 的溶剂，这意味着与手动 SPE 相比，溶剂节省了六倍。

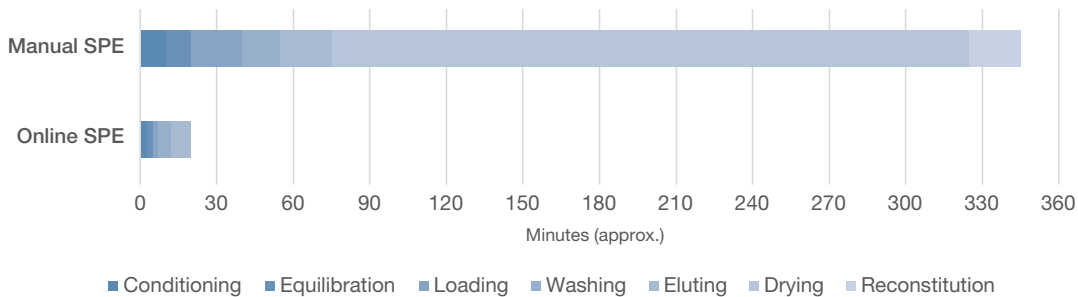


图 2. 手动 SPE 过程与使用 TriPlus RSH EQuan 850 系统的在线 SPE 过程处理一个样品所需时间的估算

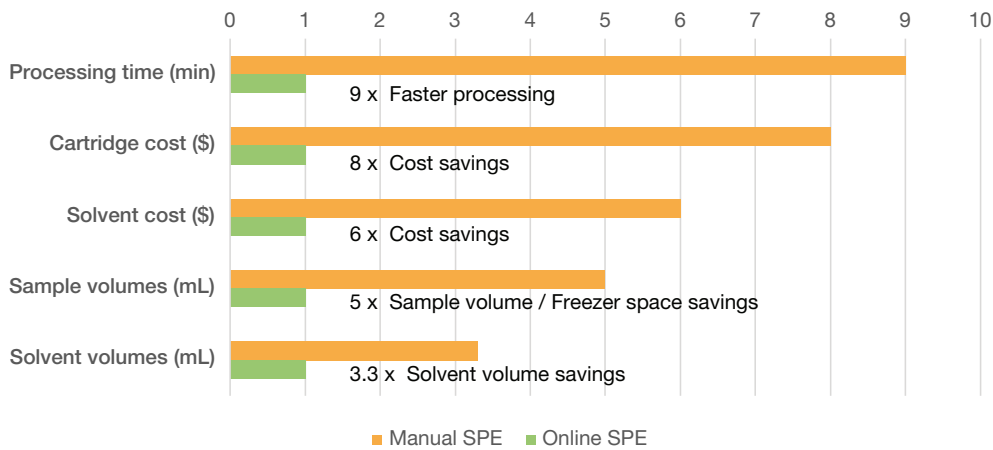


图 3. 使用 TriPlus RSH EQuan 850 系统的在线 SPE 柱的效率（缩放至值 1）与手动 SPE 柱处理的比较

减少基质效应

基质效应，无论是导致信号抑制还是增强，都是在复杂样品基质中进行新污染物痕量分析时面临的主要挑战。来自基质的干扰可能会影响定量分析的准确性和重现性。使用 TriPlus RSH EQuan 850 系统的在线 SPE 有助于去除基质干扰并减少共提取物，从而有效地最小化基质效应。

为了量化基质效应，计算了在环境地表水和 Milli-Q 水中制备的校准曲线斜率之间的比率。正值表示信号增强，负值表示信号抑制，介于 -20% 和 +20% 之间的值通常被认为反映了最小的基质效应。

在从农业邻近溪流中收集的水样中进行的多农残分析中，1 绝大多数农药的基质效应都非常低，如图 4 所示。这些环境样品中基质效应的显著减少得益于在线 SPE 过程的高效处理，包括对目标化合物的选择性吸附和对干扰共提取物的有效洗脱。

方法的重现性

在线 SPE 与 TriPlus RSH EQuan 850 系统自动化的应用有助于强大的重现性，这通过在 800 ng/L 下七次日内进样之间计算的相对标准偏差（% RSD）得以证明。对于 Toth 等人报道的方法，目标农药的 % RSD 值范围为 1.8% 到 8.4%。这种强大的日内重现性可以归因于在线 SPE 方法的自动化，确保了不同样品间和不同时间分析的一致性。

Orbitrap Exploris 120 质谱仪在单次分析色谱运行中执行正负切换模式的能力将处理时间、耗材、样品体积和分析这些农药所需的分析工作量减少了一半。定量分析的精度依赖于 HRAM Orbitrap 在定量分析期间获得的每个农药峰的扫描点数。在一级分辨率 60,000，二级分辨率 15,000 的条件下，平均每个峰可进行 113 次扫描，用于定性分析的二级扫描每秒可进行 11 次。图 5 显示了在每个色谱峰的平均点数以及扫描速度，表明系统在 UHPLC 条件下运行时，即使峰宽约为 10-20 秒，每个峰上也能采集至少 10 个点。

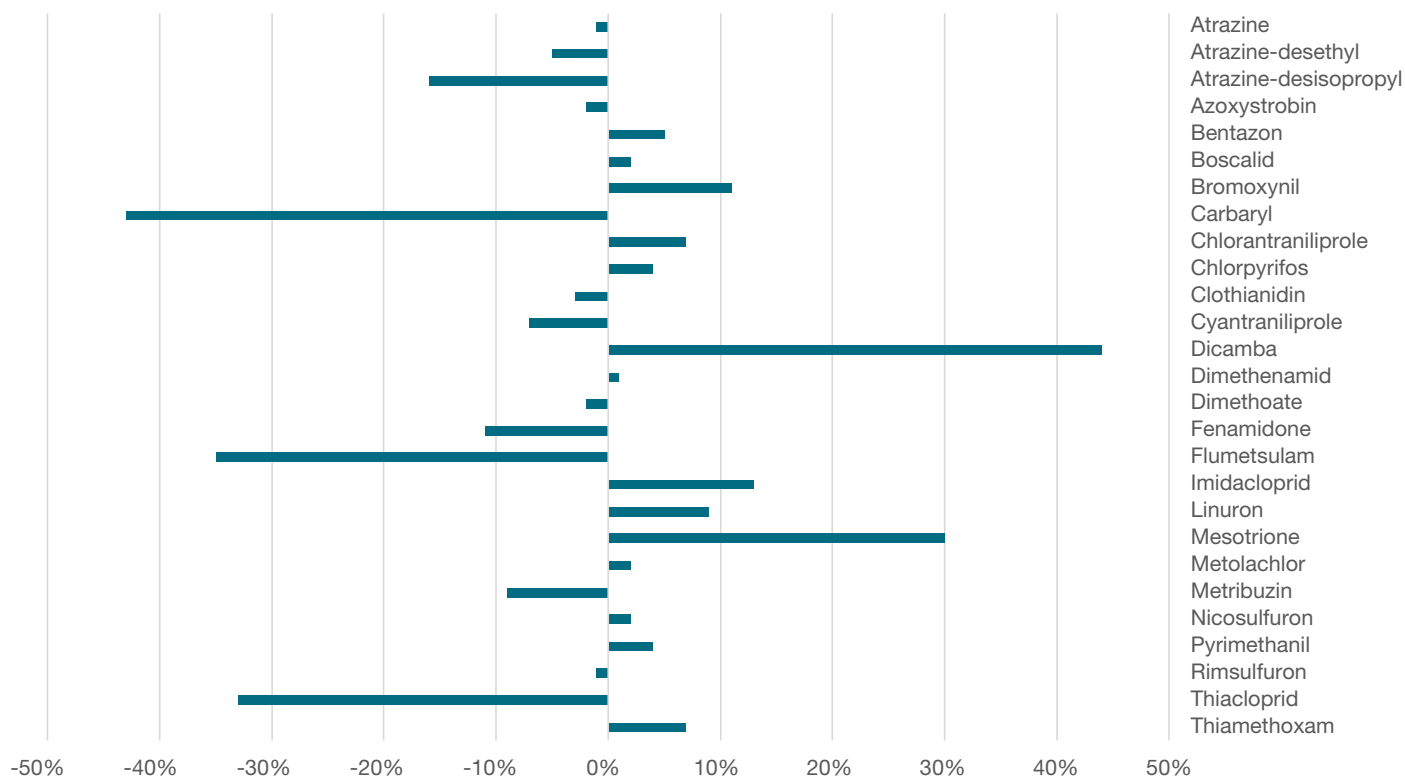


图 4. 从农业邻近溪流中收集的环境水样中各种农药的计算基质效应

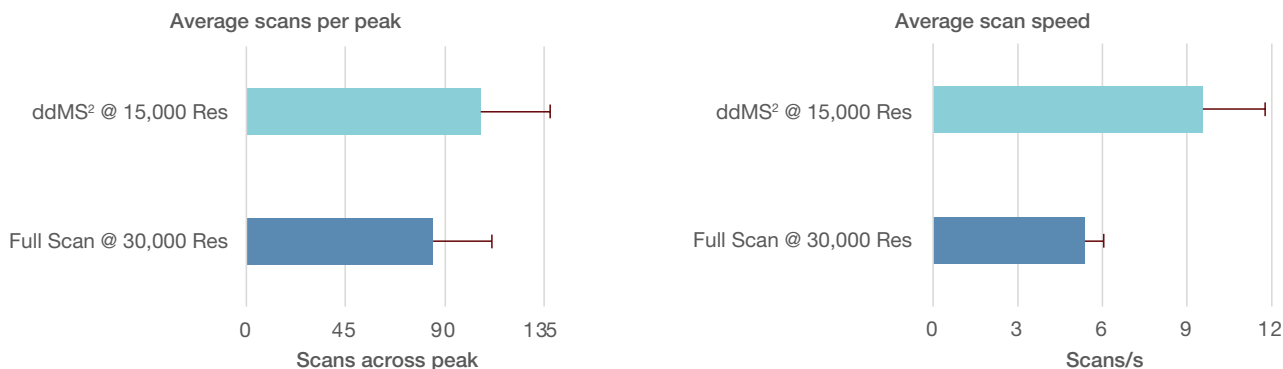


图 5. 在 Orbitrap Exploris 120 质谱仪上进行正负模式同时切换时，在农场附近溪流中采集的真实环境水样中检测到的 31 种农药的平均点数

表 2. 各种新污染物的方法性能。非法药物检测基于 2023 年 SCORE 成功的实验室间盲测。这项国际年度废水流行病学倡议通过实验室间能力验证研究（ILS）调查和监测六种化合物，并在本次研究中增加了氯胺酮作为额外标志物。PFAS 检测包括七种化合物。报告的浓度为游离酸浓度。方法的检测限和定量限的确定是根据美国环境保护署发布的程序进行的。详细信息见我们的稿件。

	Pesticides	Illicit drugs	PFAS
Detections	Total pesticide concentration in stream water sample = 7,977 ng/L	Total illicit drug concentration in wastewater sample = 2,147 ng/L	Total PFAS concentration in wastewater sample = 2,054 ng/L
Example calibration curve	Atrazine, $R^2 = 0.9986$	Ketamine, $R^2 = 0.9991$	PFOA, $R^2 = 0.9995$
LOD range	10–28 ng/L	3.93–6.49 ng/L	1.01–1.49 ng/L
LOQ range	30–86 ng/L	13.10–21.62 ng/L	3.37–4.97 ng/L

应用于其他新污染物

虽然研究人员开发了一种利用 TriPlus RSH EQuan 850 系统进行在线固相萃取 (SPE) 并结合 Orbitrap Exploris 120 质谱仪进行痕量定量分析的农药检测方法, 但需要指出的是, 该分析方法是针对不同水源样本开发的其他检测方法基础上取得的最新成果。这些方法已被应用于多种化学物质的监测, 包括对新污染物如全氟和多氟烷基物质 (PFAS) 的检测, 以及在基于废水的流行病学研究项目中追踪非法药物等化学指标。

在所有情况下, 这些方法都能够检测到新污染物——无论是溪流中的农药还是自来水和废水中的非法药物和 PFAS。它们在校准曲线中表现出强线性关系, 并且具有低检测限 (LOD) 和低定量限 (LOQ)。百分比值表示在平均样本 (无论是溪流水还是废水) 中检测到的每种化合物占总污染物浓度的比例。各种污染物方法性能的代表性数据在表 2 中展示。

结论

通过在 TriPlus RSH EQuan 850 系统上进行在线固相萃取 (SPE) 和使用 Orbitrap Exploris 120 质谱仪进行痕量定量, 展示了对环境水样中新污染物进行简单快速分析的潜力。该工作流程的关键性能标准包括:

- 通过应用在线 SPE 过程而非手动 SPE, 研究人员可以显著节省时间、劳动力和消耗品
- 在减少复杂环境样品基质的基质效应并确保强重现性的同时, 样品通量非常高
- 在不断变化的环境污染物领域中, 具有显著的灵活性, 可以有效分析农药、非法药物和 PFAS, 并有可能开发其他分析方法。其他新兴的关注污染物, 如内分泌干扰物 (EDCs), 也可以使用这种方法进行研究。

References

1. Toth, J.; Pineda, M.; Yargeau, V. Fast and simplified quantitative multiresidue analytical method for pesticides in surface waters by UHPLC-MS/MS with online sample preparation. *Chemosphere* **2023**, 137962.
2. Toth, J, Yargeau, V. Multiresidue method for the fast and efficient analysis of current- use pesticides in streambed sediments using pressurized liquid extraction. *Sci. Total Environ.* **2024**, 906, 167703.
3. Toth, J, Fugère, V.; Yargeau, V. Relationship between stream size, watershed land use, and pesticide concentrations in headwater streams. *Environmental Pollution* **2024**, 123940.

了解更多, 请访问 thermofisher.com/EQuan850

General Laboratory Equipment – Not For Diagnostic Procedures. © 2024 Thermo Fisher Scientific Inc. All rights reserved. All trademarks are the property of Thermo Fisher Scientific and its subsidiaries unless otherwise specified.

Milli-Q is a trademark of Merck KGAA. Waters and Oasis are trademarks of Waters Corporation. This information is presented as an example of the capabilities of Thermo Fisher Scientific products. It is not intended to encourage use of these products in any manner that might infringe the intellectual property rights of others. Specifications, terms and pricing are subject to change. Not all products are available in all countries. Please consult your local sales representative for details. **TN003076-EN 0724S**



赛默飞
官方微信



赛默飞色谱
与质谱中国

热线 800 810 5118
电话 400 650 5118
www.thermofisher.cn

ThermoFisher
SCIENTIFIC