

Application News

No. M269

气相色谱-质谱法
Gas Chromatography Mass Spectrometry

使用三重四极杆气相色谱质谱仪高灵敏度测定河水中的壬基酚

High-Sensitivity Analysis of Nonylphenol in River Water Using GC-MS/MS

壬基酚（NP）主要用于生产表面活性剂、橡胶和塑料的抗氧化剂等领域。具有内分泌干扰效应，是世界各国公认的环境激素。

NP 是烷基酚的一种，理论上存在 211 种异构体。其中，由壬烯（丙烯的三聚物）与苯酚反应生成的主成分是支链 4-NP。

使用固相萃取-气相色谱质谱法进行测定。定量分析步骤为：

（1）计算 4-NP 标准样品（混合物）所含 13 种异构体各自的组成比；（2）计算使用各异构体标准曲线检测到的浓度；（3）各异构体乘以其相应组成比后的累计。

但是，使用气相色谱质谱仪（GC-MS）测定各异构体，会因色谱柱或仪器灵敏度等因素的影响，有时难以检测到组成较低的第 12 个异构体的峰。

本文向您介绍使用三重四极杆气相色谱质谱仪（GC-MS/MS），对壬基酚进行分析的示例。通过优化 MS/MS 的分析条件，GC-MS/MS 便能以高灵敏度选择性地检测 GC-MS 难以测定的 4-NP 的 13 种异构体。另外，在 NP 分析中，对于河水中含有的大量杂质，即便省略净化步骤，也不影响峰识别精度。

■ 标准样品的制备

Preparation of Standard Solution

使用 4-壬基酚标准样品（商品号：28640-96, KANTO CHEMICAL CO., INC.）、4-（3,6-二甲基-3-庚基）苯酚-¹³C₆ 标准溶液（商品号：043-32861, Wako Pure Chemical Industries, Ltd.）和对正壬基酚-d4 标准样品（商品号：141-07081, Wako Pure Chemical Industries, Ltd.）作为壬基酚的标准样品。

标准系列浓度为 0.01、0.05、0.1、0.5 μg/mL。在所有标准溶液系列中将 4-（3,6-二甲基-3-庚基）苯酚-¹³C₆（代用品）制备成 0.1 μg/mL，将对正壬基酚-d4（内标）制备成 0.1 μg/mL。

■ 分析条件

Analytical Conditions

表 1 为本次分析的系统配置和仪器参数；表 2 为测定中使用的离子和离子对。

因为 GCMS-TQ8040 作为单极 GC-MS 也能进行高灵敏度分析，所以，我们分别采集了 GC-MS 模式和 GC-MS/MS 模式的数据。

表 1 GC-MS 及 GC-MS/MS 的分析条件
Analytical Conditions of GC-MS and GC-MS/MS

三重四极杆气相色谱质谱仪：GCMS-TQ8040

GC		MS	
色谱柱	: Rxi-5 ms (30 m × 0.25 mm I.D., 0.25 μm) *1	离子源温度	: 230 °C
玻璃衬管	: 单鹅颈管、带玻璃棉*2	接口温度	: 280 °C
进样口温度	: 250 °C	GC-MS	
进样模式	: 无分流	测定模式	: Q3SIM
进样时间	: 1 分钟	事件时间	: 0.3 秒
进样体积	: 2 μL	GC-MS/MS	
控制模式	: 恒线速度 (40 cm/秒)	测定模式	: MRM
柱温程序	: 50 °C (1 分钟) → (8 °C/分钟) → 300 °C (3 分钟)	循环时间	: 0.3 秒
高压进样	: 200 kPa (1.5 分钟)		

*1 商品号：13423

*2 商品号：567366

表 2 GC-MS 及 GC-MS/MS 的监测离子
Monitoring Ions of GC-MS and GC-MS/MS

ID#	化合物名称	GC-MS		GC-MS/MS	
		定量离子	定性离子	定量离子对	定性离子对
NP1	4-(2,4-二甲基庚烷-4-基) 苯酚	121	163	163.00>107.10	163.00>121.10
NP2	4-(2,4-二甲基庚烷-2-基) 苯酚	135	220	135.00>107.10	135.00>95.10
NP3	4-(3,6-二甲基庚烷-3-基) 苯酚	135	107	135.00>107.10	135.00>95.10
NP4	4-(3,5-二甲基庚烷-3-基) 苯酚	149	191	149.00>107.10	149.00>121.10
NP5	4-(3,5-二甲基庚烷-2-基) 苯酚	135	163	135.00>107.10	135.00>95.10
NP6	4-(3,5-二甲基庚烷-3-基) 苯酚	149	191	149.00>107.10	149.00>121.10
NP7	4-(3-乙基-2-甲基己烷-2-基) 苯酚	135	220	135.00>107.10	135.00>95.10
NP8	4-(3,4-二甲基庚烷-4-基) 苯酚	163	121	163.00>107.10	163.00>121.00
NP9	4-(3,4-二甲基庚烷-3-基) 苯酚	149	107	149.00>107.10	149.00>121.10
NP10	4-(3,4-二甲基庚烷-4-基) 苯酚	163	121	163.00>107.10	163.00>121.10
NP11	4-(2,3-二甲基庚烷-2-基) 苯酚	135	220	135.00>107.10	135.00>95.10
NP12	4-(3-甲基辛烷-3-基) 苯酚	191	163	191.00>107.00	191.00>121.20
NP13	4-(3,4-二甲基庚烷-3-基) 苯酚	149	107	149.00>107.10	149.00>121.10
Surr.	4-(3,6-二甲基-3-庚基) 苯酚- ¹³ C ₆	155	113	155.00>113.10	155.00>127.10
I.S.	对正壬基酚-d4	111	224	224.00>111.10	224.00>98.10

13 种异构体的分离

Separation of 13 Nonylphenol Isomers

在 4-壬基酚的分析中，需要事先使用 GC-FID 计算 13 种异构体各自的组成比。因此，我们测定了 4-NP 标准溶液后，得到了分离 13 种异构体的 GC 条件。

在分离过程中，色谱柱的种类、载气的线速度和柱温程序等因素会对分离产生影响。但因为升温程序由测试方法决定，所以本次测定对其他条件进行了分析。

由分析结果可知，使用 Rxi-5ms (30 m × 0.25 mm I.D., 0.25 μm) 色谱柱，将载气的线速度设定为 40 cm/秒，由此可分离 13 种异构体（详细分析条件如表 1 所示）。

图 1 为在 GC-MS 的 Q3 扫描模式下测定 0.5 μg/mL 的 4-壬基酚标准溶液得到的总离子流色谱图。

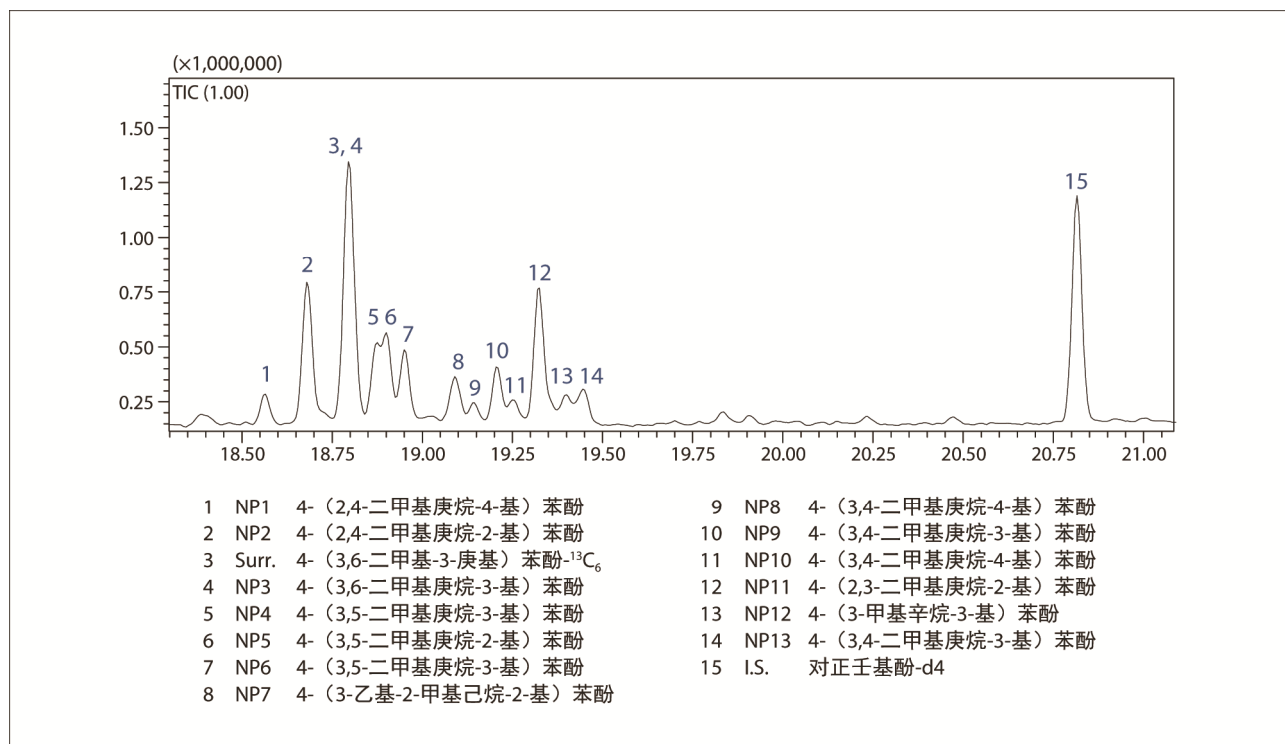


图 1 4-壬基酚标准溶液 (0.5 μg/mL) 的总离子流色谱图
Total Ion Current Chromatogram of 4-Nonylphenol Standard Solution (0.5 μg/mL)

■ 标准样品的分析

Analysis of 4-Nonylphenol Standard Solution

在 GC-MS 的 Q3 SIM 模式下和 GC-MS/MS 的 MRM 模式下测定 0.01 $\mu\text{g/mL}$ 的 4-壬基酚标准溶液（标准曲线的最小浓度），得到的测定结果如图 2 所示。由图可知，在 Q3 SIM 模式下，难以检测到组成比小且灵敏度低的第 12 个异构体（NP12）。而通过优化 MRM 模式后进行测定，则不受背景的影响，由此提高了 50 倍左右的灵敏度。

为确认 MRM 模式的定量效果，将 Q3 SIM 模式和 MRM 模式下的重现性与标准曲线的线性（相关系数：R）显示在表 3 中。由此可知，所有成分的线性均在 0.9999 以上，重现性也得到了小于 6.01 %（NP12）的良好结果。

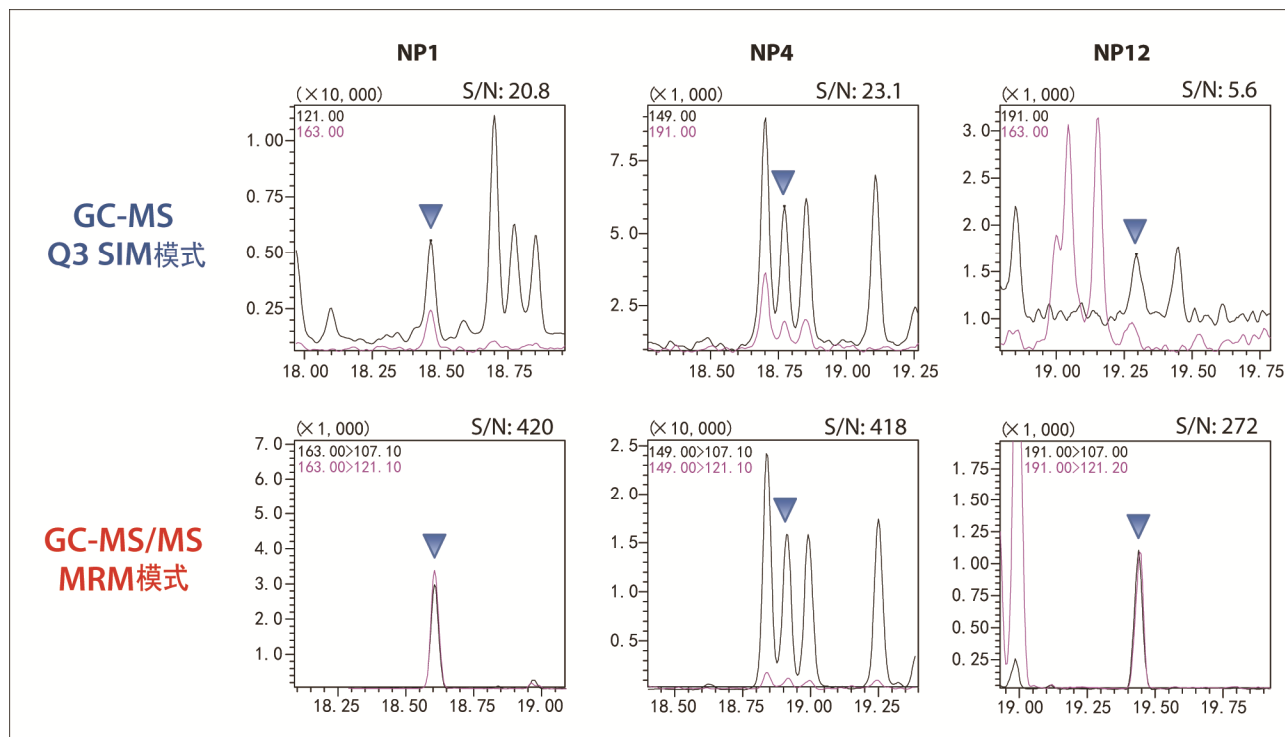


图 2 NP1、NP4 和 NP12 的 SIM 色谱图（上）与 MRM 色谱图（下）（0.01 $\mu\text{g/mL}$ 标准溶液）
SIM Chromatograms (Top) and MRM Chromatograms (Bottom) of NP1 and NP4, NP12 (0.01 $\mu\text{g/mL}$ Standard Solution)

表 3 重现性和标准曲线的线性（0.01 $\mu\text{g/mL}$, n = 5）
Repeatability and Linearity of Calibration (0.01 $\mu\text{g/mL}$, n = 5)

异构体 No.	GC-MS				GC-MS/MS			
	平均值 ($\mu\text{g/mL}$)	标准偏差	%RSD	相关系数: R	平均值 ($\mu\text{g/mL}$)	标准偏差	%RSD	相关系数: R
NP1	0.01005	0.00015	1.47	0.999999	0.01037	0.00038	3.64	0.999997
NP2	0.00980	0.00036	3.69	0.999993	0.00992	0.00014	1.42	0.999994
NP3	0.01015	0.00016	1.58	0.999999	0.01015	0.00025	2.47	0.999997
NP4	0.01037	0.00016	1.51	0.999998	0.01025	0.00024	2.34	0.999998
NP5	0.00980	0.00024	2.44	0.999999	0.00994	0.00027	2.74	0.999999
NP6	0.00986	0.00036	3.62	0.999999	0.00992	0.00032	3.23	0.999993
NP7	0.01029	0.00034	3.31	0.999992	0.00983	0.00029	2.95	0.999995
NP8	0.01033	0.00034	3.27	0.999997	0.00984	0.00021	2.15	0.999997
NP9	0.00941	0.00013	1.41	0.999992	0.01014	0.00030	2.97	0.999995
NP10	0.01034	0.00028	2.75	0.999995	0.00989	0.00010	1.05	0.999998
NP11	0.01026	0.00027	2.60	0.999996	0.01005	0.00013	1.31	0.999992
NP12	0.01019	0.00077	7.52	0.999986	0.00985	0.00059	6.01	0.999954
NP13	0.01012	0.00025	2.47	0.999999	0.01007	0.00035	3.52	0.999992

■ 河水中 4-壬基酚的分析

Analysis of 4-Nonylphenol in River Water

图 3 为河水的预处理流程。本次分析使用 Oasis HLB Plus Short Cartridge (商品号: 186000132、Waters Corporation) 作为固相萃取柱; 使用 AQUALoader Twin SPL698T (商品号: 6030-69804、GL Sciences Inc.) 作为正压式固相萃取仪。本方法省略了洗脱后使用硅胶进行的净化步骤。

表 4 为精制水及河水中添加的代用品物质 (Surr.) 的回收率。虽然实际样品的回收率较精制水的低, 但是在 50~120 % 的范围内, 所以可以认为预处理阶段的吸附引起的损耗被控制在最小限度。

接着, 向经过预处理的河水添加 4-壬基酚标准溶液, 并定容到 0.05 $\mu\text{g/mL}$, 由此确认了杂质的影响。如图 4 (上) 所示, 在 Q3 SIM 模式下测定时, 由于杂质的影响而难以识别 NP1、NP4 和 NP12, 所以需要使用 MRM 模式进行测定, 图 4 (下) 为测定结果。由图可知, 根据 m/z 离子对选择性的进行分离, 可不受杂质的影响, 简单地进行峰识别。

表 4 代用品物质的回收率
Surrogate Recovery

	精制水	河水 1	河水 2
回收率 (%)	77.3	66.0	64.2

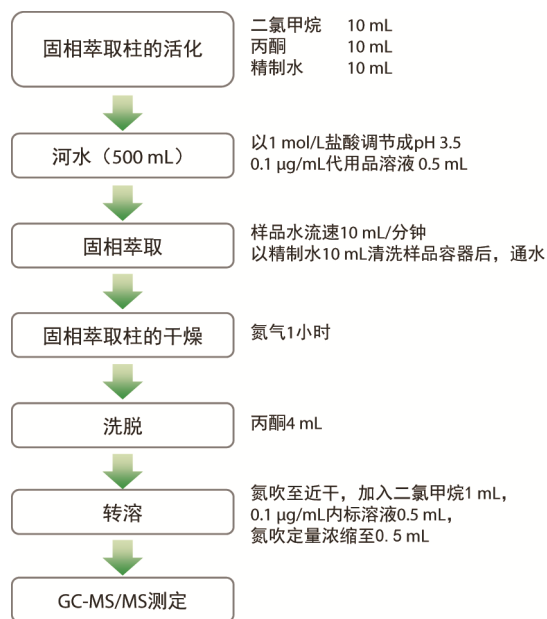


图 3 河水的预处理流程
River Water Sample Pretreatment Flow

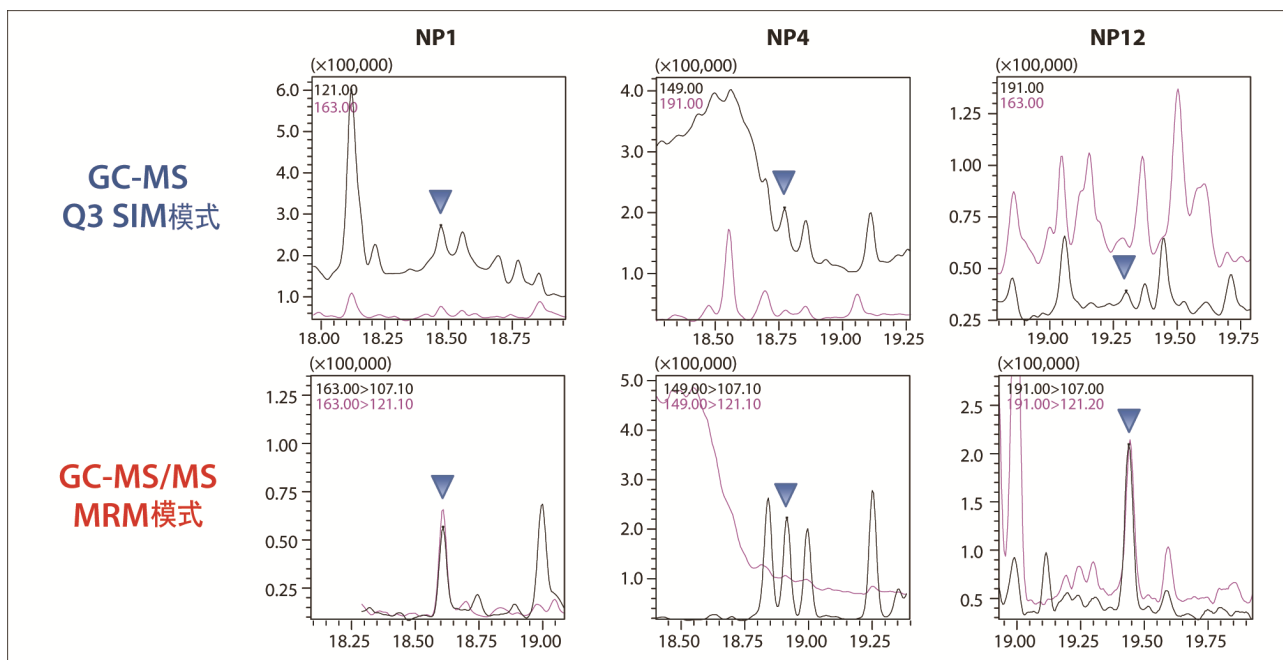


图 4 标准添加的河水样品的 SIM 色谱图 (上) 和 MRM 色谱图 (下)
SIM Chromatograms (Top) and MRM Chromatograms (Bottom) of Spiked River Water Sample

■ 结论

Conclusions

综上所述, 使用传统的 GC-MS 分析水中的壬基酚, 无法在异构体定量分析中得到较高的 NP12 灵敏度, 而通过优化 GC-MS/MS 的 MRM 模式, 可将灵敏度提高 50 倍左右。

另外, 使用 GC-MS/MS, 对于 GC-MS 中受杂质干扰而难以识别的峰, 可以根据 m/z 离子对选择性地分离, 从而提高了实测样品准确度。而且, 对于河水等含有大量杂质的样品, 可省略繁琐的净化操作, 从而简化了预处理流程。



岛津企业管理 (中国) 有限公司
岛津 (香港) 有限公司

<http://www.shimadzu.com.cn>

用户服务热线电话: 800-810-0439
400-650-0439

免责声明:

* 本资料未经许可不得擅自修改、转载、销售;
* 本资料中的所有信息仅供参考, 不予任何保证。
如有变动, 恕不另行通知。

第一版发行日: 2014 年 12 月