

LC-MS/MS 法测土壤和沉积物 13 种苯胺类和 2 种联苯胺类化合物

参考标准：《HJ 1210-2021》

1 前言

苯胺类化合物(aniline derivatives)在医药、橡胶和染料等工业和农业中被广泛地用作重要原料和中间体。同时，又因其具有明显致癌作用和强毒性，是我国规定的优先控制污染物。由于土壤基质的物理化学吸附作用，苯胺类化合物进入环境后极易在土壤中积累，对环境造成持久的危害。通过监测土壤中苯胺类化合物的污染情况，对环境监控及污染治理具有重要意义。因此，本文建立了使用谱育科技超高效液相色谱-三重四极杆串联质谱仪测定土壤和沉积物 13 种苯胺类和 2 种联苯胺类化合物的快速且高灵敏度的检测方法。

2.实验部分

2.1 标准品、试剂和设备：

仪器：ULC 510 超高效液相色谱仪（具体配有二元超高压输液泵、超高压自动进样器（含冷却功能）、柱温箱）、EXPEC 5210 三重四极杆串联质谱仪。

标准品：13 种苯胺和 2 联苯胺类化合物混标：包括 3-甲基苯胺、联苯胺、苯胺、4- 甲基苯胺、2- 甲氧基苯胺、2- 甲基苯胺、2,4-二甲基苯胺、4-硝基苯胺、3-硝基苯胺、4-氯苯胺、2-萘胺、2,6-二甲基苯胺、3-氯苯胺、3,3'-二氯联苯胺、N-亚硝基二苯胺，其中 3-硝基苯胺浓度为 200 mg/L，其他化合物浓度为 100 mg/L；内标：苯胺-d5、联苯胺-d8、3,3'-二氯联苯胺-d6、N-亚硝基二苯胺-d6（内

标均为 100 mg/L)于-20℃冰箱保存。以上标准品均购于上海安谱实验室,于-20℃冰箱保存。

试剂: 甲醇、乙腈、正己烷、丙酮、二氯甲烷为色谱级, 甲酸为色谱级, 纯度 98%, 五水硫代硫酸钠为 AR 级; 耗材: 石英砂 (40-80 目), C18 固相萃取柱 (1g/6ml)。



2.2 液相和质谱条件

表 1 方法条件

LC 条件	流动相	0.01%甲酸水 (A) 和 0.01%甲酸甲醇 (B), 梯度洗脱		
	流速	0.25 mL/min		
	色谱柱及保护柱	ZORBAX RRHD Eclipse Plus C18 (3*100mm, 1.8um)		
	进样量	10uL		
	柱温	35°C		
	运行时间	15 min		
	梯度方法	Time (min)	A (%)	B (%)
	0	70	30	
	9	5	95	
	10	5	95	
	10.1	70	30	
	15	70	30	
MS 条件	运行模式	ESI+		
	雾化气流量	1/L/min		
	去溶剂气流量	5L/min		
	反吹气流量	1/L/min		

	去溶剂气温度	500°C
	碰撞气流量	0.45mL/min (5.86e-3Torr)
	毛细管高压	5kV

监测模式为多反应监测(MRM), 各化合物监测离子对、碰撞电压(CE)等参数见下

方法名称 13种苯胺和2种联苯胺-分段-MRM
修改原因

LC MS

开碰撞气 MCA模式 智能MRM 添加片段 插入片段 删除片段

方法片段值	开始时间(min)	结束时间(min)	离子化模式	扫描模式
1	0	3.2	ESI+	MRM
2	3	3.5	ESI+	MRM
3	3.4	4.5	ESI+	MRM
4	4.5	6.3	ESI+	MRM
5	5.8	10	ESI+	MRM

循环时间 0.76

使用调谐电压 扫描间隔 0.01 s 数据类型 棒状图 跨度 0

	化合物名称	母离子质量	子离子质量	驻留时间(s)	锥孔电压	碰撞能量	分辨率
1	联苯胺	186	167.9	0.08	35	17	Unit-Unit
2	联苯胺	186	141	0.08	35	23	Unit-Unit
3	苯胺	93.9	77.1	0.08	53	13	Unit-Unit
4	苯胺	93.9	51.1	0.08	53	35	Unit-Unit
5	4-甲基苯胺	108	91	0.08	61	15	Unit-Unit
6	4-甲基苯胺	108	65.1	0.08	61	30	Unit-Unit
7	苯胺- <i>d</i> 5	99	82.1	0.08	35	17	Unit-Unit
8	联苯胺- <i>d</i> 8	193	174.2	0.08	48	30	Unit-Unit

方法名称 13种苯胺和2种联苯胺-分段-MRM
修改原因 7

LC MS

开碰撞气 MCA模式 智能MRM 添加片段 插入片段 删除片段

方法片段值	开始时间(min)	结束时间(min)	离子化模式	扫描模式
1	0	3.2	ESI+	MRM
2	3	3.5	ESI+	MRM
3	3.4	4.5	ESI+	MRM
4	4.5	6.3	ESI+	MRM
5	5.8	10	ESI+	MRM

循环时间 0.66

使用调谐电压 扫描间隔 0.01 s 数据类型 棒状图 跨度 0

	化合物名称	母离子质量	子离子质量	驻留时间(s)	锥孔电压	碰撞能量	分辨率
1	2-甲氧基苯胺	124.2	109	0.15	51	20	Unit-Unit
2	2-甲氧基苯胺	124.2	80	0.15	51	35	Unit-Unit
3	3-甲基苯胺	108.1	91.1	0.15	58	15	Unit-Unit
4	3-甲基苯胺	108.1	65.1	0.15	58	26	Unit-Unit

方法名称 13种苯胺和2种联苯胺-分段-MRM
修改原因 7

LC MS

开碰撞气 MCA模式 智能MRM 添加片段 插入片段 删除片段

方法片段值	开始时间(min)	结束时间(min)	离子化模式	扫描模式
1	0	3.2	ESI+	MRM
2	3	3.5	ESI+	MRM
3	3.4	4.5	ESI+	MRM
4	4.5	6.3	ESI+	MRM
5	5.8	10	ESI+	MRM

循环时间 0.66

使用调谐电压 扫描间隔 0.01 s 数据类型 棒状图 跨度 0

	化合物名称	母离子质量	子离子质量	驻留时间(s)	锥孔电压	碰撞能量	分辨率
1	2-甲基苯胺	108	91	0.15	44	15	Unit-Unit
2	2-甲基苯胺	108	65.1	0.15	44	30	Unit-Unit
3	2, 4-二甲苯胺	122.1	107	0.15	49	10	Unit-Unit
4	2, 4-二甲苯胺	122.1	79.1	0.15	49	20	Unit-Unit

方法名称 13种苯胺和2种联苯胺-分段-MRM
修改原因 7

LC MS

开碰撞气 MCA模式 智能MRM 添加片段 插入片段 删除片段

方法片段值	开始时间(min)	结束时间(min)	离子化模式	扫描模式
1	0	3.2	ESI+	MRM
2	3	3.5	ESI+	MRM
3	3.4	4.5	ESI+	MRM
4	4.5	6.3	ESI+	MRM
5	5.8	10	ESI+	MRM

循环时间 0.76

使用调谐电压 扫描间隔 0.01 s 数据类型 棒状图 跨度 0

	化合物名称	母离子质量	子离子质量	驻留时间(s)	锥孔电压	碰撞能量	分辨率
1	4-硝基苯胺	139	122.1	0.08	32	10	Unit-Unit
2	4-硝基苯胺	139	92	0.08	32	16	Unit-Unit
3	3-硝基苯胺	139	76.2	0.08	30	35	Unit-Unit
4	3-硝基苯胺	139	93.1	0.08	30	20	Unit-Unit
5	4-氯苯胺	128	93.1	0.08	35	15	Unit-Unit
6	4-氯苯胺	128	111	0.08	35	20	Unit-Unit
7	2-苯胺	144	127	0.08	30	20	Unit-Unit
8	2-苯胺	144	77.1	0.08	30	35	Unit-Unit

方法名称	13种苯胺和2种联苯胺一分段-MEM				
修改原因	7				
<input checked="" type="checkbox"/> 开碰撞气 <input type="checkbox"/> MCA模式 <input checked="" type="checkbox"/> 智能MEM 添加片段 插入片段 删除片段					
<input type="checkbox"/> 使用调谐电压 扫描间隔 0.01 s 数据类型 棒状图 跨度 0 循环时间 0.75					
方法片段信	开始时间(min)	结束时间(min)	离子化模式	扫描模式	
1	0	3.2	ESI+	MEM	
2	3	3.5	ESI+	MEM	
3	3.4	4.5	ESI+	MEM	
4	4.5	6.3	ESI+	MEM	
5	5.8	10	ESI+	MEM	

	化合物名称	母离子质量	子离子质量	驻留时间(s)	锥孔电压	碰撞能量	分辨率
▶ 1	2, 6-二甲基苯胺	122.1	105	0.06	40	10	Unit-Unit
2	2, 6-二甲基苯胺	122.1	79	0.06	40	15	Unit-Unit
3	3-氯苯胺	128	93.1	0.06	35	15	Unit-Unit
4	3-氯苯胺	128	111	0.06	35	25	Unit-Unit
5	3, 3'-二氯联苯胺	253	217	0.06	40	20	Unit-Unit
6	3, 3'-二氯联苯胺	253	182.1	0.06	40	25	Unit-Unit
7	N-亚硝基二苯胺	199.1	169	0.06	35	10	Unit-Unit
8	N-亚硝基二苯胺	199.1	66.1	0.06	35	30	Unit-Unit
9	3, 3'-二氯联...	259.2	160.1	0.06	65	45	Unit-Unit
10	N-亚硝基二苯...	205.3	175.1	0.06	36	17	Unit-Unit

2.3 样品前处理

参考标准：HJ 1210-2021土壤和沉积物 13 种苯胺类和 2 种联苯胺类化合物的测定 液相色谱-三重四极杆质谱法（HJ 1210-2021）前处理方法进行处理。

3.1 线性和检出限

参考标准 HJ 1210-2021 标曲制作方法，25%甲醇水配置得到一系列浓度的 13 种苯胺和 2 联苯胺类化合物混标，其中 3-甲基苯胺、联苯胺、苯胺、4-甲基苯胺、2-甲氧基苯胺、2-甲基苯胺、2,4-二甲基苯胺、4-硝基苯胺、4-氯苯胺、2-萘胺、2,6-二甲基苯胺、3-氯苯胺、3,3'-二氯联苯胺、N-亚硝基二苯胺曲线浓度为 (0.5 ng/mL、1 ng/mL、5 ng/mL、10 ng/mL、20ng/ml、50 ng/mL、100 ng/mL)，3-硝基苯胺曲线浓度为 (1 ng/mL、2 ng/mL、10 ng/mL、20 ng/mL、40ng/ml、100 ng/mL、200 ng/mL)，内标浓度均为 50 ng/mL。按照上述方法进样，以各目标物的定量离子色谱峰面积与内标的定量离子色谱峰面积之比 (Y) 为纵坐标，目标物标准溶液的质量浓度(X)为横坐标，权重系数为 1/x，采用内标法拟合后的标准曲线如图 1 至 15 所示。标准对照品的典型谱图如图 16，标准曲线最低点的定量离子色谱图如图 17 所示。将曲线最低点进样分析，按照 S/N=10 和 S/N=3 计算定量限和检出限，结果如表 2 所示。

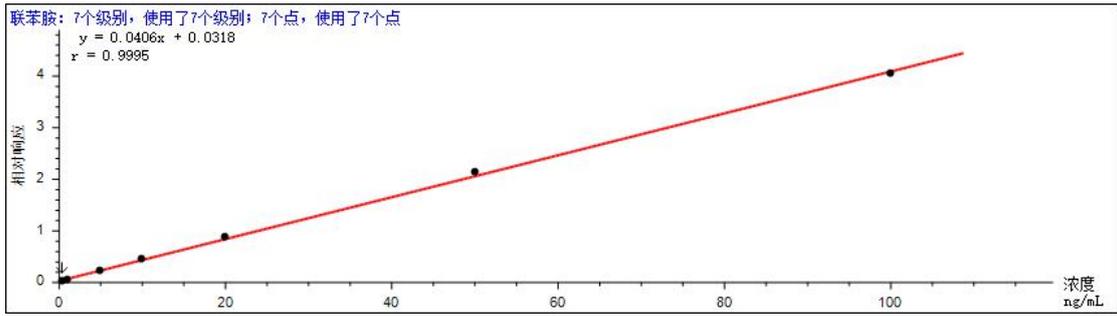


图 1 联苯胺标准曲线

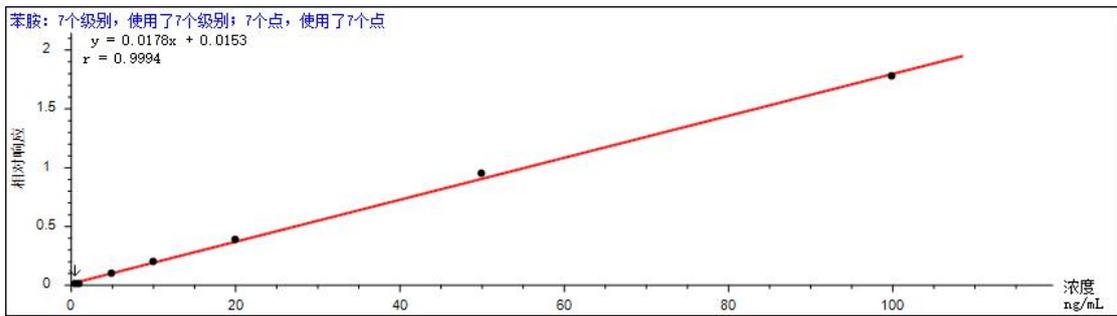


图 2 苯胺标准曲线

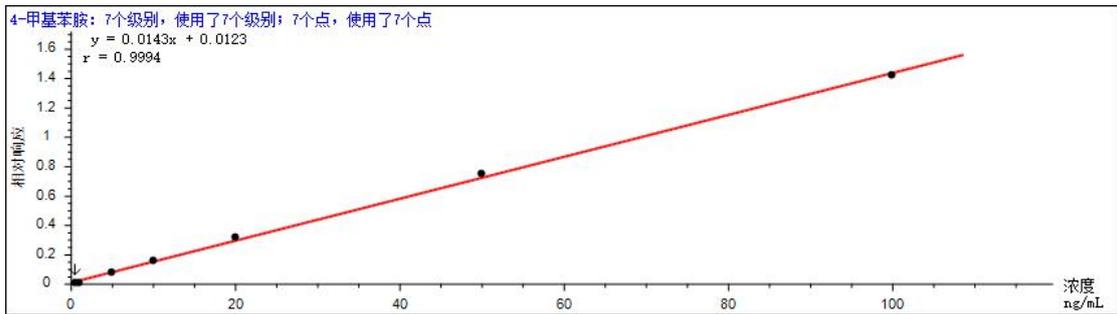


图 3 4- 甲基苯胺标准曲线

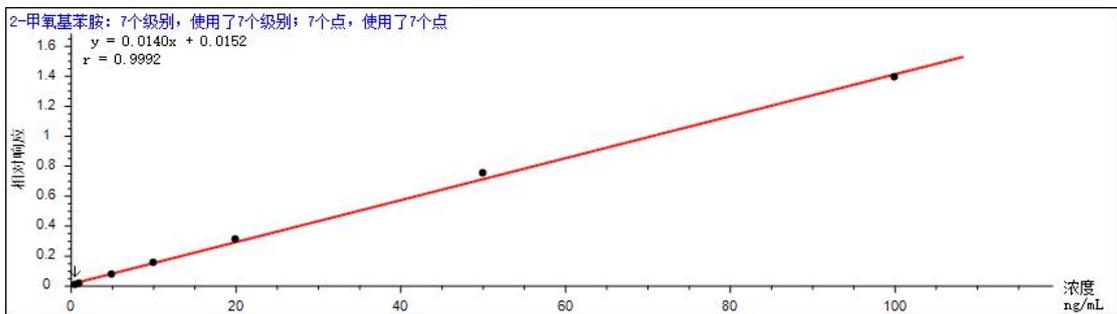


图 4 2- 甲氧基苯胺标准曲线

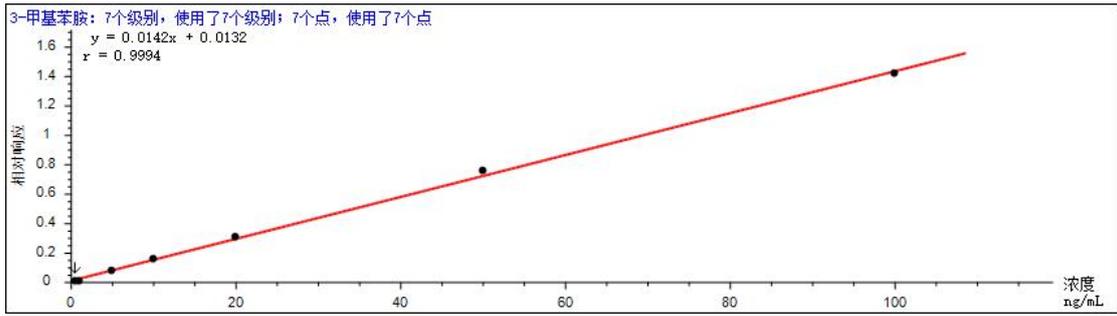


图 5 3- 甲基苯胺标准曲线

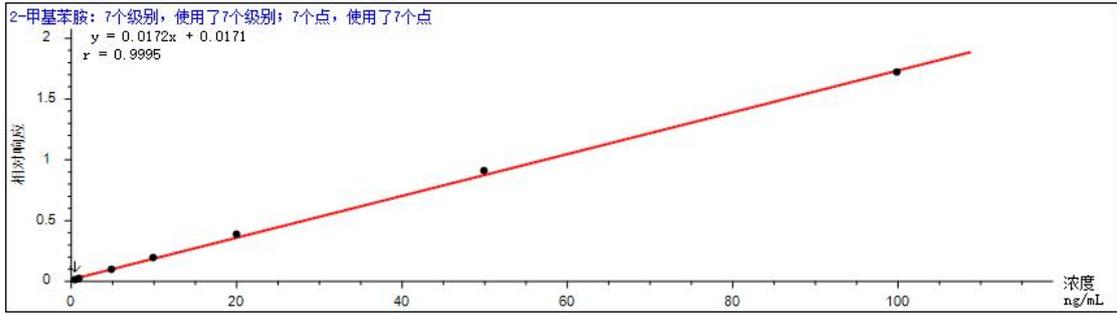


图 6 2- 甲基苯胺标准曲线

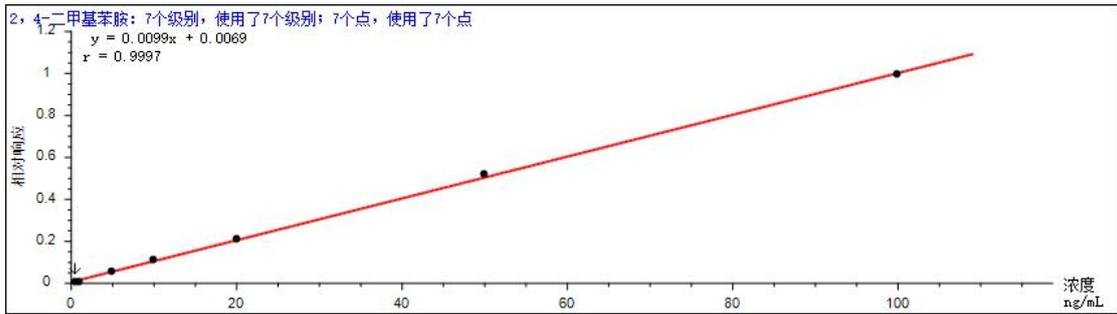


图 7 2,4-二甲基苯胺标准曲线

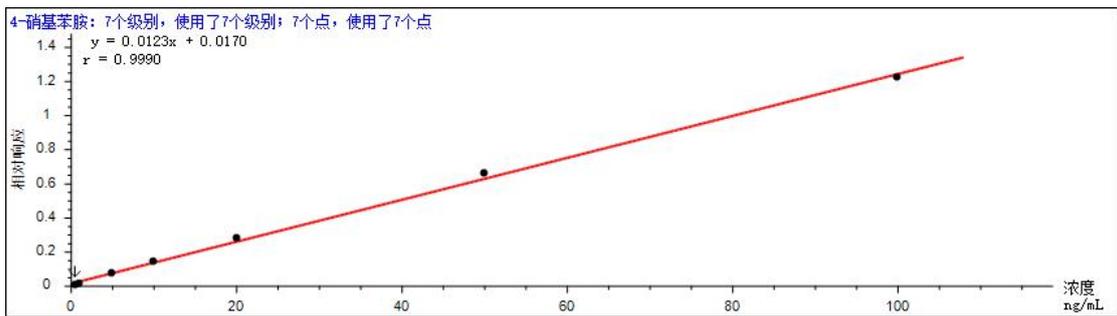


图 8 4-硝基苯胺标准曲线

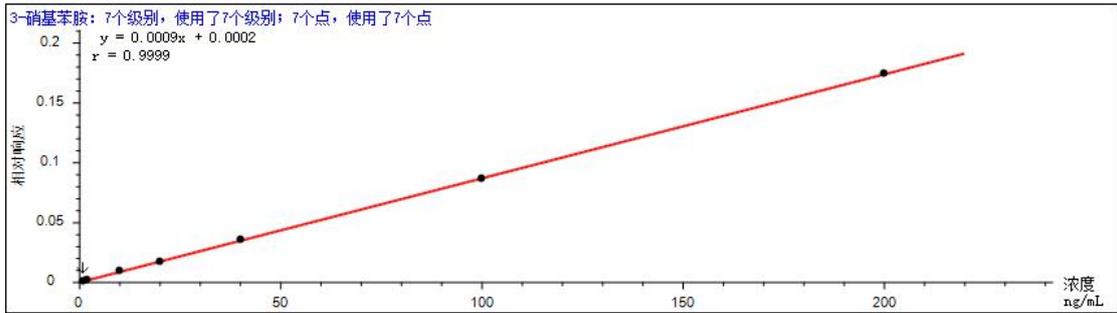


图 9 3- 硝基苯胺标准曲线

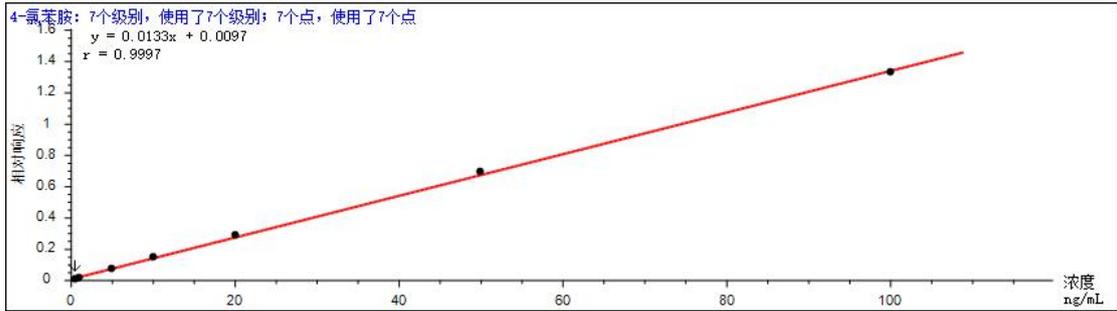


图 10 4- 氯苯胺标准曲线

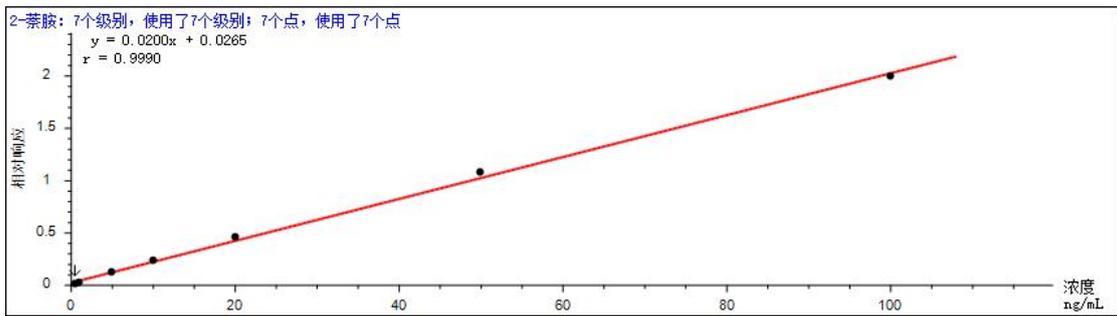


图 11 2- 萘胺标准曲线

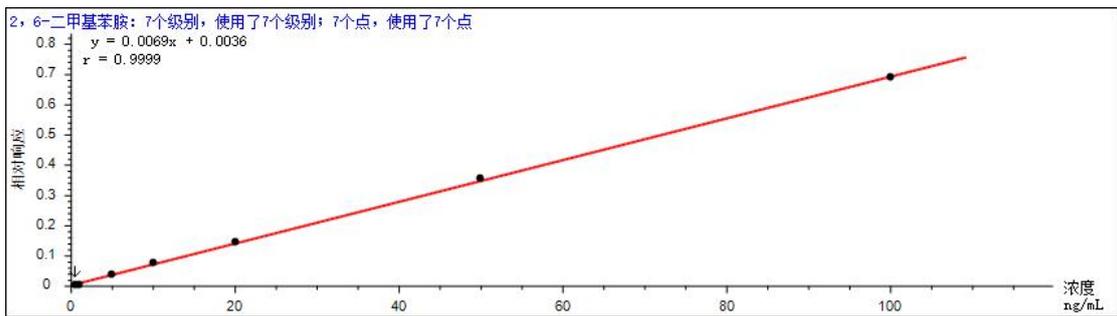


图 12 2,6- 二甲基苯胺标准曲线

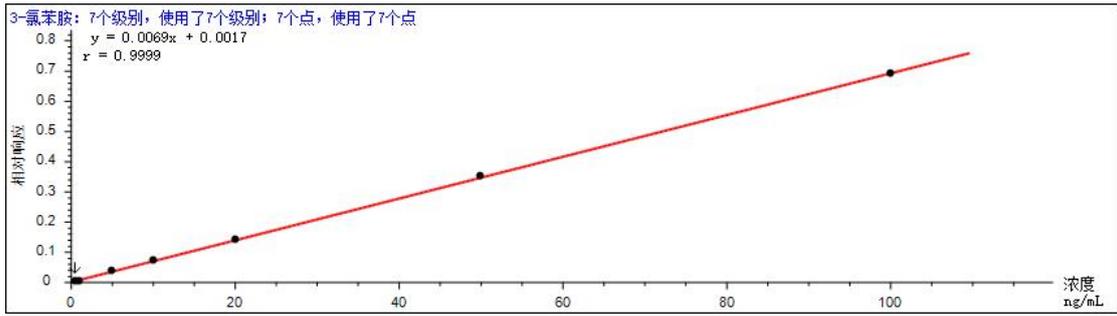


图 13 3-氯苯胺标准曲线

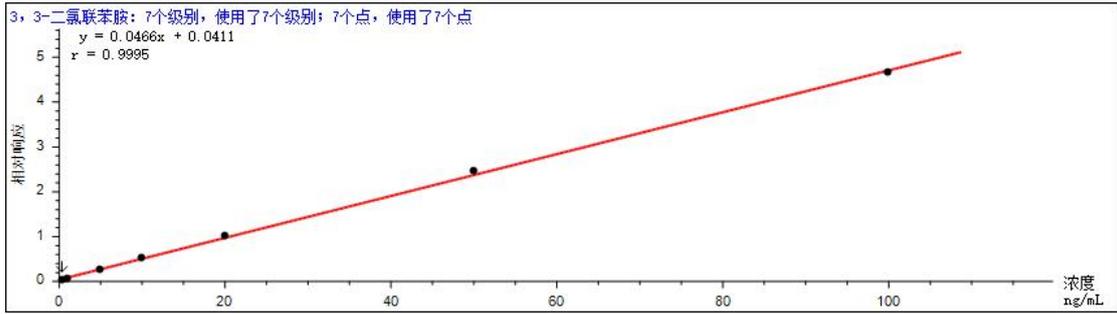


图 14 3,3'-二氯联苯胺标准曲线

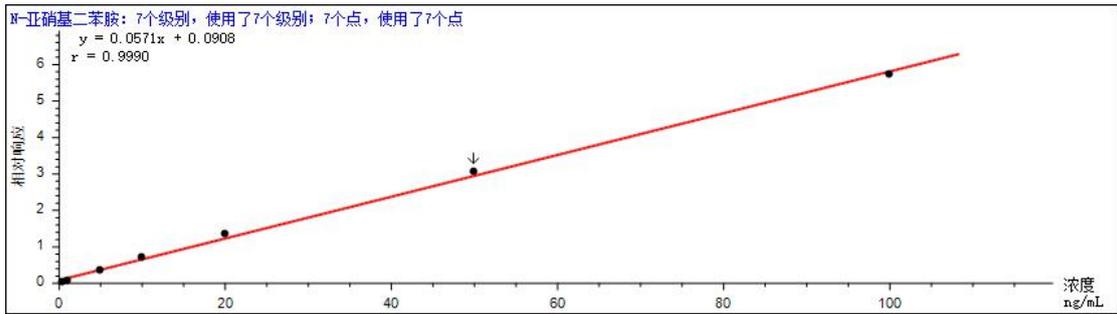


图 15 N-亚硝基二苯胺标准曲线

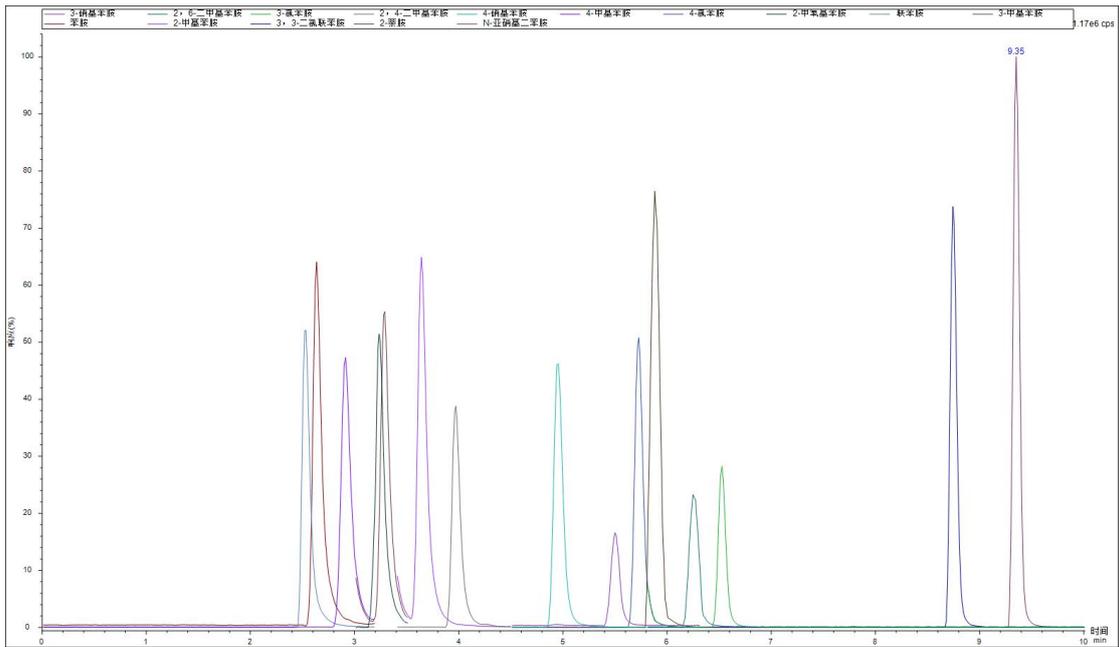


图 16 标准对照品的典型谱图(其中 3-硝基苯胺浓度为 40 ng/ml,其余目标物浓度为 20 ng/ml)

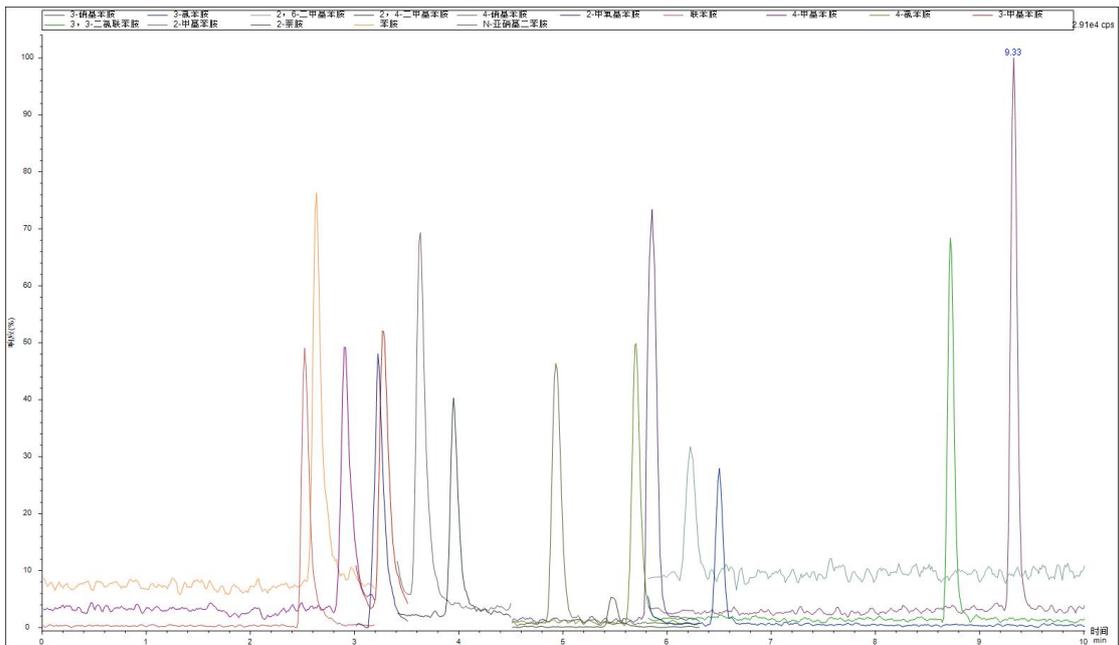


图 17 标准曲线最低点的色谱图(其中 3-硝基苯胺浓度为 1 ng/ml,其余目标物浓度为 0.5 ng/ml)

表 2 以标准曲线最低点(其中 3-硝基苯胺浓度为 1 ng/ml,其余目标物浓度为 0.5 ng/ml)计算所得各目标物检出限和定量限

序号	化合物名称	S/N	检出限 (ng/ml)	定量限 (ng/ml)
1	联苯胺	146.91	0.01	0.03
2	苯胺	46.36	0.03	0.10
3	4- 甲基苯胺	33.17	0.05	0.14

样品信息	数据文件			采集时间			定量方法			联苯胺			苯胺			4-甲基苯胺			
	Id	数据文件	采集时间	定量方法	保留时间	响应	相对响应	保留时间	响应	相对响应	保留时间	响应	相对响应	保留时间	响应	相对响应	保留时间	响应	相对响应
1	361191359	13种苯胺类和2种联苯胺类13种苯胺类和2种联苯胺类-S6-1	2022-03-16 01:52	苯胺类定量方法-1	2.52	8348827.00	2.11	2.63	11630830.00	0.95	2.91	9286243.00	0.76						
2	362162953	13种苯胺类和2种联苯胺类13种苯胺类和2种联苯胺类-S6-2	2022-03-16 02:09	苯胺类定量方法-1	2.51	8482402.00	2.18	2.62	11536330.00	0.94	2.90	9188738.00	0.75						
3	363143718	13种苯胺类和2种联苯胺类13种苯胺类和2种联苯胺类-S6-3	2022-03-16 02:25	苯胺类定量方法-1	2.52	8292626.00	2.14	2.62	11548890.00	0.95	2.90	9326836.00	0.77						
4	364116265	13种苯胺类和2种联苯胺类13种苯胺类和2种联苯胺类-S6-4	2022-03-16 02:41	苯胺类定量方法-1	2.53	8547479.00	2.19	2.63	11675350.00	0.95	2.91	9377022.00	0.76						
5	365088843	13种苯胺类和2种联苯胺类13种苯胺类和2种联苯胺类-S6-5	2022-03-16 02:57	苯胺类定量方法-1	2.52	8472571.00	2.14	2.62	11723920.00	0.95	2.90	9362703.00	0.75						
6	366062156	13种苯胺类和2种联苯胺类13种苯胺类和2种联苯胺类-S6-6	2022-03-16 03:14	苯胺类定量方法-1	2.52	8422020.00	2.17	2.62	11583500.00	0.95	2.90	9340490.00	0.77						
Min					2.51	8292626.00	2.11	2.62	11536330.00	0.94	2.90	9188738.00	0.75						
Max					2.53	8547479.00	2.19	2.63	11723920.00	0.95	2.91	9377022.00	0.77						
AVG					2.52	8427654.00	2.16	2.63	11616470.00	0.95	2.90	9313672.00	0.76						
SD					0.01	93649.48	0.03	0.01	73883.28	0.01	0.01	68804.96	0.01						
RSD					0.32	1.11	1.29	0.25	0.64	0.60	0.23	0.74	1.05						
IDL					0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00						

样品信息	数据文件			采集时间			定量方法			2-氨基苯胺			3-氨基苯胺			2,4-二氨基苯胺			4-硝基苯胺			3-硝基苯胺			
	Id	数据文件	采集时间	定量方法	保留时间	响应	相对响应	保留时间	响应	相对响应	保留时间	响应	相对响应	保留时间	响应	相对响应	保留时间	响应	相对响应	保留时间	响应	相对响应	保留时间	响应	相对响应
1	361191359	13种苯胺类和2种联苯胺类13种苯胺类和2种联苯胺类-S6-1	2022-03-16 01:52	苯胺类定量方法-1	3.22	9058846.00	0.70	3.28	9354625.00	0.71	3.64	11389880.00	0.93	3.96	6449448.00	0.52	4.94	8219239.00	0.67	5.49	1106193.00	0.09			
2	362162953	13种苯胺类和2种联苯胺类13种苯胺类和2种联苯胺类-S6-2	2022-03-16 02:09	苯胺类定量方法-1	3.22	9045741.00	0.72	3.28	9354625.00	0.71	3.64	11389880.00	0.93	3.96	6449448.00	0.52	4.94	8219239.00	0.67	5.49	1106193.00	0.09			
3	363143718	13种苯胺类和2种联苯胺类13种苯胺类和2种联苯胺类-S6-3	2022-03-16 02:25	苯胺类定量方法-1	3.22	9209680.00	0.77	3.29	9297486.00	0.77	3.64	11230410.00	0.92	3.96	6422280.00	0.53	4.94	8134922.00	0.67	5.49	1129396.00	0.09			
4	364116265	13种苯胺类和2种联苯胺类13种苯胺类和2种联苯胺类-S6-4	2022-03-16 02:41	苯胺类定量方法-1	3.25	8981291.00	0.73	3.29	9256245.00	0.73	3.65	11230410.00	0.91	3.97	6469109.00	0.53	4.96	8232189.00	0.67	5.50	1051148.00	0.09			
5	365088843	13种苯胺类和2种联苯胺类13种苯胺类和2种联苯胺类-S6-5	2022-03-16 02:57	苯胺类定量方法-1	3.24	9301102.00	0.75	3.28	9370922.00	0.76	3.64	11230750.00	0.91	3.97	6427423.00	0.52	4.94	8225712.00	0.66	5.49	1069990.00	0.09			
6	366062156	13种苯胺类和2种联苯胺类13种苯胺类和2种联苯胺类-S6-6	2022-03-16 03:14	苯胺类定量方法-1	3.24	9255498.00	0.77	3.28	9447183.00	0.77	3.64	11355040.00	0.93	3.97	6476947.00	0.53	4.94	8359390.00	0.68	5.50	1137193.00	0.09			
Min					3.22	8981291.00	0.73	3.28	9256245.00	0.73	3.64	11180180.00	0.91	3.96	6422280.00	0.52	4.94	8134922.00	0.66	5.49	1051148.00	0.09			
Max					3.25	9354544.00	0.77	3.29	9447183.00	0.77	3.65	11388880.00	0.93	3.97	6476947.00	0.53	4.96	8359390.00	0.68	5.50	1137193.00	0.09			
AVG					3.22	9251544.00	0.75	3.28	9363287.00	0.76	3.64	11273960.00	0.92	3.97	6445540.00	0.53	4.95	8225592.00	0.67	5.49	1096518.00	0.09			
SD					0.01	159035.10	0.02	0.01	63889.45	0.01	0.00	80716.52	0.01	0.01	21447.98	0.00	0.01	74984.16	0.01	0.01	34128.89	0.00			
RSD					0.26	1.72	2.18	0.27	0.67	1.25	0.12	0.22	1.00	0.14	0.33	0.86	0.10	0.91	1.11	0.13	3.11	2.88			
IDL					0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00				

样品信息	数据文件			采集时间			定量方法			4-氨基苯胺			2-萘胺			2,6-二氨基苯胺			3-萘胺			3,4-二氨基苯胺			N-乙酰基-2-萘胺			
	Id	数据文件	采集时间	定量方法	保留时间	响应	相对响应	保留时间	响应	相对响应	保留时间	响应	相对响应	保留时间	响应	相对响应	保留时间	响应	相对响应	保留时间	响应	相对响应	保留时间	响应	相对响应	保留时间	响应	相对响应
1	361191359	13种苯胺类和2种联苯胺类13种苯胺类和2种联苯胺类-S6-1	2022-03-16 01:52	苯胺类定量方法-1	5.73	8630770.00	0.70	5.86	13432500.00	1.06	6.25	4423466.00	0.36	6.53	4361121.00	0.35	6.74	9533379.00	2.45	9.35	12017830.00	3.20						
2	362162953	13种苯胺类和2种联苯胺类13种苯胺类和2种联苯胺类-S6-2	2022-03-16 02:09	苯胺类定量方法-1	5.73	8630770.00	0.70	5.86	13432500.00	1.06	6.25	4423466.00	0.36	6.53	4361121.00	0.35	6.74	9533379.00	2.45	9.35	12017830.00	3.20						
3	363143718	13种苯胺类和2种联苯胺类13种苯胺类和2种联苯胺类-S6-3	2022-03-16 02:25	苯胺类定量方法-1	5.73	8502328.00	0.70	5.88	13484970.00	1.11	6.25	4370225.00	0.36	6.53	4321280.00	0.36	6.74	9799181.00	2.53	9.35	12401978.00	3.20						
4	364116265	13种苯胺类和2种联苯胺类13种苯胺类和2种联苯胺类-S6-4	2022-03-16 02:41	苯胺类定量方法-1	5.73	8621943.00	0.70	5.88	1348450.00	1.09	6.27	4427811.00	0.36	6.53	4376239.00	0.36	6.74	9650686.00	2.47	9.35	12102850.00	3.10						
5	365088843	13种苯胺类和2种联苯胺类13种苯胺类和2种联苯胺类-S6-5	2022-03-16 02:57	苯胺类定量方法-1	5.73	8585181.00	0.69	5.88	13343210.00	1.08	6.25	4396925.00	0.35	6.53	4358437.00	0.35	6.74	9742810.00	2.46	9.35	12365550.00	3.13						
6	366062156	13种苯胺类和2种联苯胺类13种苯胺类和2种联苯胺类-S6-6	2022-03-16 03:14	苯胺类定量方法-1	5.73	8728468.00	0.72	5.91	13509880.00	1.11	6.27	4573866.00	0.37	6.53	4499564.00	0.37	6.74	9626951.00	2.48	9.35	11899260.00	3.07						
Min					5.73	8502328.00	0.69	5.88	13343210.00	1.08	6.25	4369556.00	0.35	6.53	4281121.00	0.35	6.74	9533375.00	2.45	9.35	11899260.00	3.07						
Max					5.73	8728468.00	0.72	5.91	13509880.00	1.11	6.27	4573866.00	0.37	6.53	4499564.00	0.37	6.74	9616493.00	2.45	9.35	12461970.00	3.20						
AVG					5.73	8613993.00	0.70	5.89	13438490.00	1.10	6.26	4428642.00	0.36	6.53	4369748.00	0.36	6.74	9694916.00	2.48	9.35	12197040.00	3.12						
SD					0.05	76911.27	0.01	0.01	81622.52	0.01	0.01	76198.91	0.01	0.00	74916.48	0.01	0.00	110106.38	0.03	0.00	216355.40	0.05						
RSD					0.08	0.88	1.13	0.18	0.61	1.25	0.22	0.22	1.72	1.94	0.00	1.69	1.82	0.00	1.14	1.15	1.00	1.79	1.56					
IDL					0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00							

4 结论

本文建立了一种使用 LC-MS/MS 系统同时测定土壤和沉积物中 13 种苯胺类和 2 种联苯胺类化合物的定量分析方法。本文考察了方法的线性、精密性、灵敏度等，结果表明：13 种苯胺类和 2 种联苯胺类化合物检出限在 0.01-0.11ng/ml 之间，定量限在 0.03-0.33ng/ml 之间；且在检测范围内线性良好，相关系数均大于 0.999；方法精密性：3-硝基苯胺浓度为 10 ng/ml，其余目标物浓度为 5 ng/ml 重复性：保留时间和响应的 RSD 值分别在 0.01-0.39%之间和 0.73%-2.86%之间；3-硝基苯胺浓度为 100 ng/ml，其余目标物浓度为 50 ng/ml 重复性：保留时间和响应的 RSD 值分别在 0-0.32%之间和 0.33%-3.11%之间。因此，使用高灵敏、高抗污染能力的 EXPEC 5210 系统，可以对土壤和沉积物中 13 种苯胺类和 2 种联苯胺类化合物进行灵敏、准确的定量检测。