

## 液相色谱-串联质谱前驱离子扫描非靶向筛查卤代有机物

王 昆<sup>1</sup> 黄新文<sup>2</sup> 林坤德\*<sup>1</sup>

<sup>1</sup>( 厦门大学,福建省海陆界面生态环境重点实验室,近海环境化学与毒理研究中心,环境与生态学院,厦门 361102)

<sup>2</sup>( 浙江工业大学环境学院,杭州 310014)

**摘 要** 建立了液相色谱-串联质谱(LC-MS/MS)前驱离子扫描(PIS)非靶向筛查卤代有机物的分析方法。卤代有机物在PIS分析中产生的卤素碎片离子能通过PIS Q3预设的质核比通道( $m/z$  35、37、79、81和127),根据通过的质核比通道可判断卤代有机物种类,并获取其分子离子质核比信息,而非卤代有机物无法通过PIS Q3的筛选。当Q2碰撞能为50 eV时,PIS对卤代有机物具有较高的灵敏度。利用伯努利概型总结了不同卤代有机物的理论同位素峰数量和丰度比的规律,结合PIS分析结果可判断有机物携带卤素原子数量。本方法成功应用于实验室样品和海水中的卤代有机物的筛查,未来有望用于其它环境样品中卤代有机物的快速筛检。

**关键词** 液相色谱-串联质谱;前驱离子扫描;卤代有机物;同位素丰度比

### 1 引言

卤代有机物不仅在自然界中分布广泛,而且对生态系统安全、人类健康有较大的威胁<sup>[1]</sup>。截至2015年,仅天然卤代有机物就已被发现逾5000余种<sup>[2]</sup>。部分卤代有机物被证实是环境激素类物质<sup>[3]</sup>。其中,卤代脂肪烃、多氯联苯、氯代苯酚、含氯农药等多种卤代有机物被美国环保局列为“优先控制污染物”<sup>[4]</sup>。卤代有机物在自然环境中性质稳定,能长时间残留于水、土壤和底泥中<sup>[5]</sup>。随着环境中检出的卤代有机物种类不断增加,其环境化学行为、控制方法及生态毒理效应备受关注,而建立准确、高效的卤代有机物分析方法则是进行上述研究的基础。基于液相色谱-质谱联用技术(LC-MS)和气相色谱-质谱联用技术(GC-MS)的卤代有机物定量分析方法<sup>[6,7]</sup>虽然灵敏度高,但通常是针对某种或某类物质,且不具备非靶向筛查能力,导致许多未知卤代有机物无法被及时发现。因此,亟需建立快速、简单的卤代有机物筛查方法。

许多研究已经利用GC-MS、GC×GC-TOF MS检测未知卤代有机物<sup>[8,9]</sup>,但现行的大部分非靶向筛查方法对极性卤代有机物不具备特异性。基于LC-MS/MS前驱离子扫描(PIS)的分析方法因其能根据目标物携带的特征基团进行非靶向筛查<sup>[10-15]</sup>而备受关注。Zhang等<sup>[11]</sup>利用LC-MS/MS的PIS建立了一种饮用水中极性溴代有机物的筛查方法,成功用于饮用水中溴代消毒副产物的筛查。李欢等<sup>[14]</sup>采用PIS法筛查了溴代苯酚类物质在氯消毒过程中生成的溴代中间产物,发现了一组具有五元环结构的新型消毒副产物三卤代-羟基环戊烯二酮。目前,关于LC-MS/MS的PIS单次进样实现混合卤代有机物的非靶向筛查尚未见报道,值得进行研究。

PIS模式的具体工作原理如下<sup>[16]</sup>:当PIS Q3设为 $m/z$  79时,LC-MS/MS的质量分析器Q3只能通过 $m/z=79$ 的碎片离子。假设未知样品中有含Br的X物质和不含Br的Y物质,两种物质通过离子源电离后形成对应的分子离子 $X^-$ 和 $Y^-$ 。 $X^-$ 和 $Y^-$ 依次通过质量分析器Q1时,Q1能够记录其 $m/z$ 大小。随后进入碰撞活化室Q2与氮气(或氦气)发生碰撞,产生碎片离子。由于 $X^-$ 含有Br原子,可产生 $^{79}\text{Br}^-$ 和 $^{81}\text{Br}^-$ 碎片, $m/z$  79的 $^{79}\text{Br}^-$ 碎片可通过Q3筛选,在检测器中产生信号,并在PIS谱图中显示其分子离子大小。而 $Y^-$ 在Q2碰撞过程中不产生含Br<sup>-</sup>碎片,无法通过Q3筛选,故不会产生信号。由于Br存在天然稳定同位素 $^{79}\text{Br}$ 和 $^{81}\text{Br}$ ,当待测物质在PIS Q3  $m/z$  79和81下同时产生信号,且结果能反映 $^{79}\text{Br}$ 和

2018-05-31 收稿;2018-08-14 接受

本文系国家自然科学基金项目( Nos. 21477115, 21876142) 资助

\* E-mail: link@xmu.edu.cn

$^{81}\text{Br}$ 的丰度比为 1:1,则认为有溴代有机物检出。同理,当待测物质在 PIS Q3  $m/z$  35 和 37 下同时产生响应,且结果能反映 $^{35}\text{Cl}$ 和 $^{37}\text{Cl}$ 丰度比为 3:1,则可认为有氯代有机物检出。PIS Q3  $m/z$  127 下产生信号,则认为有碘代有机物检出。由于目前 LC-QQQ MS/MS 的 PIS 模式能够实现 4 个 PIS Q3  $m/z$  通道的同时监控,本研究尝试采用单次进样实现混合卤代化合物的非靶向筛查。

基于 LC-MS/MS 的 PIS 模式,本研究建立了一种简单、快速的卤代有机物筛查方法,结合伯努利概型计算不同卤代化合物的同位素峰数量及理论丰度比,判断卤代化合物中卤素原子的取代个数。本方法成功应用于氯过氧化物酶(CPO)催化生成卤代咪唑以及海水中卤代有机物的筛查。

## 2 实验部分

### 2.1 仪器与试剂

Infinity 1290 型 LC-G6490A 型 QQQ MS/MS(美国 Agilent 公司); N-EVAP-111 氮吹浓缩仪(美国 Organomation 公司); 固相萃取(SPE)装置(上海 CNW 公司); KD-300DA 数控超声波清洗机(昆山超声仪器公司)。

乙腈、甲醇、正己烷、甲基叔丁基醚(色谱纯,美国 Tedia 公司); 甲酸(分析纯,汕头西陇化工公司); 3-溴咪唑(>97%)、3,6-二溴咪唑(>97%)、3,6-二氯咪唑、己烯雌酚( $\geq 99\%$ )、雌二醇(98%)、己烷雌酚( $\geq 98\%$ ) 购自美国 Sigma-Aldrich 公司; 1,3,6-三溴咪唑(>98%)、3-氯咪唑(>98%)、1-溴-3,6-二氯咪唑(>98%)、1,3,6,8-四氯咪唑(>98%)、2,3,6,8-四氯咪唑(>98%) 购自加拿大 Wellington 实验室; 雌三醇(>98%,上海百灵威科技公司); 苯丙酸诺龙(99%,武汉贝尔卡生物医药有限公司); 填料量为 500 mg 的 Oasis HLB SPE 柱(美国 Waters 公司); 0.22  $\mu\text{m}$  PTFE 针式过滤器(天津津腾公司); 实验用水为超纯水(电阻率 $\geq 18.2\text{ M}\Omega\cdot\text{cm}$ , Milli-Q Element 系统,美国 Millipore 公司)。

### 2.2 液相色谱-串联质谱测定参数

色谱参数: 色谱柱为 Agilent Proshell 120 EC- $\text{C}_{18}$ 柱(100 mm $\times$ 2.1 mm, 2.7  $\mu\text{m}$ ); 流动相为水(A)-乙腈(B); 梯度洗脱程序: 0~5 min 5% B; 5~35 min 5%~95% B; 35~40 min 95% B; 40~45 min 5% B。流速为 0.2 mL/min; 进样体积为 10  $\mu\text{L}$ 。

质谱参数分: 离子源为电喷雾负离子(ESI $^{-}$ )模式; 分段设置为 0~5 min, To waste 模式; 5~45 min, To MS 模式; 鞘气温度为 350 $^{\circ}\text{C}$ ; 鞘气流速为 12 L/min; 干燥器温度为 300 $^{\circ}\text{C}$ ; 干燥器流速为 16 L/min; 雾化器压力为 35 psi; 喷嘴电压为 1500 V; 毛细管电压为 4000 V; 破碎电压 380V; 碰撞气为高纯氮气(99.999%); PIS 模式时, Q3 检测离子设为  $m/z$  35、37、79、81 或 127, Q1 范围为  $m/z$  100~700, 碰撞能为 50 eV; 全扫描模式时, 范围为  $m/z$  100~700。

### 2.3 实际样品的采集和预处理

**2.3.1 CPO 催化生成卤代咪唑实验和预处理** 实验方法参照文献[17]。分别取 20  $\mu\text{L}$  一定浓度的咪唑标准使用液于 1.5 mL Agilent 进样瓶中,依次加入 100 mmol/L pH 3.0  $\text{NaH}_2\text{PO}_4/\text{H}_3\text{PO}_4$  缓冲溶液、不同浓度的 NaX 溶液、5 mmol/L  $\text{H}_2\text{O}_2$  和 10 U/mL CPO,拧紧瓶盖,涡旋振荡混匀溶液,置于温度为(25 $\pm$ 1) $^{\circ}\text{C}$ 的恒温摇床中避光反应。反应总体积为 0.5 mL,咪唑初始浓度为 1.0  $\mu\text{mol/L}$ ,  $\text{H}_2\text{O}_2$  和 CPO 初始浓度分别为 500  $\mu\text{mol/L}$  和 1 U/mL。待取样时,向体系中加入 0.5 mL 正己烷-甲基叔丁基醚(90:10, V/V)进行萃取,静置分层后收集有机相;重复上述操作 2 次,合并有机相,氮吹至干,用甲醇定容至 200  $\mu\text{L}$ 后直接分析。

**2.3.2 海水的采集和预处理** 2017 年 6 月,在厦门西海域九龙江入海口 2 个采样站位(A 和 B)采集表层水样。采集的水样用 1 L 铝箔纸包裹的玻璃瓶盛装,避光保存运输。样品预处理采用水样中多种有机物同时分析方法<sup>[18]</sup>,具体操作如下:采用甲醇和超纯水活化 HLB 固相萃取柱,500 mL 待测水样以 4~6 mL/min 的流速匀速通过 HLB 柱。上样完毕后,先用 6 mL 甲醇-水(5:95, V/V)对 HLB 柱进行清洗,抽干后,依次用 8 mL 甲醇、4 mL 甲醇-二氯甲烷(50:50, V/V)洗脱,收集洗脱液,40 $^{\circ}\text{C}$ 下氮吹,最后用甲醇-水(20:80, V/V)定容至 1.0 mL,经 0.22  $\mu\text{m}$  PVDF 滤膜过滤后直接分析。

### 3 结果与讨论

#### 3.1 碰撞能的优化

实现 PIS 分析的核心是利用碰撞活化室 Q2 的高纯氮气(或氦气)对待测物质进行碎片化,再筛选出目标  $m/z$ 。碰撞能越大,待测物质碎片化程度越高,而过高碰撞能会使目标碎片离子进一步破碎。为考察碰撞能的影响,选择 5 种碰撞能(5、20、35、50 和 70 eV)进行比较。由图 1 可见,当碰撞能从 5 eV 增大至 35 eV,卤代有机物的响应不断增强,但随着碰撞能的继续增加,仪器响应趋于稳定,说明碰撞能升高可增加卤代有机物母离子的碎片化,有利于获得  $\text{Cl}^-$  和  $\text{Br}^-$  碎片。为避免长时间使用高碰撞能对 MS 寿命的负面影响,后续实验将碰撞能设为 50 eV。

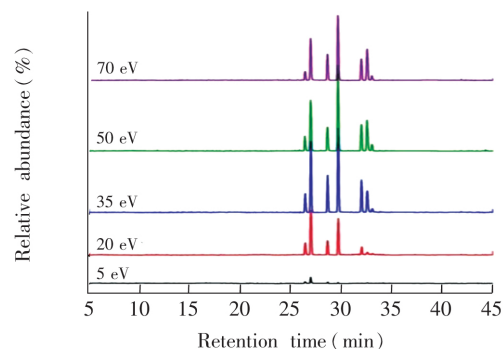


图 1 不同碰撞能对 LC-MS/MS PIS 模式筛查卤代有机物的影响

Fig.1 Effects of collision energy on precursor ion scan (PIS) of halogenated compounds

#### 3.2 PIS 与全扫描模式的比较

向 50  $\mu\text{g}/\text{L}$  卤代咔唑混合标准品中掺入等浓度的 6 种雌激素(非卤代有机化合物)作为干扰物质,比较 PIS 和全扫描两种分析模式对卤代咔唑的筛查效果,结果如图 2 所示。

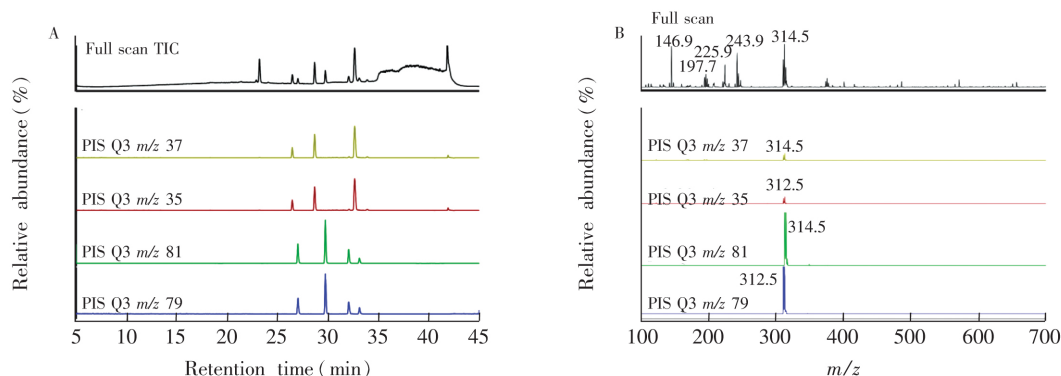


图 2 卤代咔唑混合标准溶液(50  $\mu\text{g}/\text{L}$ )掺入等浓度的 6 种雌激素的全扫描和 PIS 模式的色谱图比较(A)和保留时间为 32.05 min 时的质谱图比较(B)

Fig.2 Chromatograms (A) and mass spectra (B) at retention time of 32.05 min in full scan mode and PIS mode. Samples were spiked with 50  $\mu\text{g}/\text{L}$  of halogenated carbazole mixtures and 50  $\mu\text{g}/\text{L}$  of estrogens

由图 2A 可见,全扫描模式的总离子流图涵盖了包括干扰物质和卤代有机物在内的所有有机物,不具有选择性。另外,当流动相变为高比例有机相(即 35~42 min)时,全扫描模式的基线漂移明显,噪声增加,分析时需注意目标物是否被掩盖;相比之下,PIS 的基线平稳,仅有卤代咔唑出峰,能直接排除干扰物质,后期分析工作量小。

以保留时间(RT) 32.05 min 的 MS 图为例(图 2B),比较了相同保留时间 PIS 和全扫描模式的  $m/z$  干扰情况。在 4 个 PIS Q3  $m/z$  的 MS 图中,  $m/z$  314.5 附近均能观察到一簇同位素峰,且满足一定丰度比规律,由此推断该物质为混合卤代有机物。4 张 PIS Q3  $m/z$  MS 图几乎观察不到其它  $m/z$  的干扰,而全扫描的 MS 图中存在  $m/z$  为 146.9、197.7、225.9、243.9 等众多干扰峰,增加了后期分析的难度。

由此可见,全扫描模式不具备选择性,可以获得更多样品信息,但同时存在背景干扰较大等不足,数据处理阶段需逐一进行甄别,工作量较大;而 PIS 模式可根据实际需求,改变 PIS Q3 的  $m/z$  值,调整筛查范围,在筛查携带特征官能团有机物时能取得较好的效果,具有灵活、工作量小等优点。

### 3.3 PIS 分析中氯、溴取代有机物理论同位素峰数及其丰度

在质谱分析中,同位素峰的个数和相对丰度是判断待测物质中卤代个数的重要依据。在自然环境中, $^{35}\text{Cl}$ 和 $^{37}\text{Cl}$ 丰度比约为 3:1, $^{79}\text{Br}$ 和 $^{81}\text{Br}$ 丰度比约为 1:1,而 I 元素的几种天然同位素自然含量差异较大。QQQ 这类三重四极杆质谱不能准确测量同位素丰度和丰度比值,低丰度的同位素常被背景噪声掩盖,因此不能根据图谱中的同位素峰数及其丰度关系判断 I 等同位素丰度差异较大的元素的取代数量。

由于 Cl、Br 两种元素都只存在两种天然同位素,每个取代位上的卤素是轻同位素或重同位素互不影响,所以是相互独立事件,因此质谱分析中同位素峰的丰度关系可用伯努利概型计算。以 Br 为例,若将待测物质的  $N$  个同位素峰按  $m/z$  从小到大排列,第  $k$  个峰代表该物质的  $N$  个 Br 原子中含有  $k$  个  $^{81}\text{Br}$ ,且任一取代位上  $^{79}\text{Br}$  的概率  $p_{79}$  为 0.5, $^{81}\text{Br}$  的概率  $p_{81}$  也为 0.5,那么该同位素峰的丰度概率为:

$$P(k; N) = C_N^k p_{79}^{N-k} p_{81}^k \quad (1)$$

其中  $C_N^k$  表示从  $N$  个元素中取  $k$  个元素的组合数。

各个同位素峰的概率比值就是该物质同位素峰丰度之比。反过来,实际实验也可通过同位素峰个数及丰度比判断 Cl、Br 原子的取代数量。

全扫描模式中,含  $m$  个 Br 原子和  $n$  个 Cl 原子的物质在质谱图中会对应产生  $m+n+1$  个同位素峰,但实际实验中发现,PIS 模式的  $m/z$  仅有  $m+n$  个同位素峰,相对丰度规律也与全扫描存在不同。下面从纯卤代、氯溴混合取代两种情况,比较 PIS 模式与全扫描模式的丰度比差异。

**3.3.1 纯卤代化合物** 以 Q3 检测的质荷比设定为  $m/z$  79 为例,介绍纯溴代化合物理论丰度比的计算过程。当含  $N$  个 Br 原子的目标物的 Br 原子均为  $^{79}\text{Br}$  时,其相对分子质量为  $M$ 。假设该物质进行 LC-MS/MS PIS 模式分析,则会产生  $N$  个同位素峰。若将  $N$  个同位素峰按  $m/z$  值从小到大排列,第  $k$  个峰应含有  $k-1$  个  $^{81}\text{Br}$  原子 ( $1 \leq k \leq N$ )。那么该峰对应的物质相对分子质量为  $M+2k-2$ ,且含有  $N-k+1$  个  $^{79}\text{Br}$  原子,记为事件 A。事件 A 发生概率可用伯努利概型进行计算,其概率为:

$$P(A) = C_N^{k-1} p_{79}^{N-k+1} p_{81}^{k-1} \quad (2)$$

由于全扫描模式中第  $k$  个峰对应物质的所有 Br 原子都被检测,各个同位素峰之间不存在差异,因此常忽略该部分计算;而 PIS 模式中,第  $k$  个峰对应物质的  $N$  个 Br 原子仅  $N-k+1$  个被检测,因此该峰在仪器上产生的响应是全扫描响应的  $\frac{N-k+1}{N}$ 。

因此该同位素的丰度为

$$\begin{aligned} P &= \frac{N-k+1}{N} \times P(A) = \frac{N-k+1}{N} \times C_N^{k-1} p_{79}^{N-k+1} p_{81}^{k-1} = \frac{N-k+1}{N} \times C_N^{k-1} \times 0.5^{N-k+1} \times 0.5^{k-1} \\ &= \frac{N-k+1}{N} \times C_N^{k-1} \times 0.5^N \end{aligned} \quad (3)$$

将  $N=1,2,3$  等整数依次带入算式,可以计算获得不同溴代个数有机物的同位素峰的理论丰度比,列于表 1。同理,也计算了 PIS Q3  $m/z$  设定为 81 的理论丰度比。

表 1 纯溴代有机物在两种扫描模式下的理论丰度比

Table 1 Theoretical isotopic abundances of brominated organics for two scan modes

Br 原子个数 Br atoms number	全扫描模式 Full Scan Mode [M]: [M+2]: ...: [M+2N]	PIS Q3 $m/z$ 79 [M]: [M+2]: ...: [M+2N-2]	PIS Q3 $m/z$ 81 [M+2]: ...: [M+2N-2]: [M+2N]
1	1:1	1	1
2	1:2:1	1:1	1:1
3	1:3:3:1	1:2:1	1:2:1
4	1:4:6:4:1	1:3:3:1	1:3:3:1
5	1:5:10:10:5:1	1:4:6:4:1	1:4:6:4:1

纯氯代有机物也可采用该方法进行计算。不同的是,Cl 原子的两种同位素丰度比为 3:1,化合物任一取代位上  $^{35}\text{Cl}$  的概率  $p_{35}$  为 0.75, $^{37}\text{Cl}$  的概率  $p_{37}$  为 0.25。具体结果列于表 2。

表 2 纯氯代有机物在两种扫描模式下的理论丰度比

Table 2 Theoretical isotopic abundances of chlorinated organics for two scan modes

Cl 原子个数 Cl atoms number	全扫描模式 Full Scan Mode [M]: [M+2]: …: [M+2N]	PIS Q3 m/z 35 [M]: [M+2]: …: [M+2N-2]	PIS Q3 m/z 37 [M+2]: …: [M+2N-2]: [M+2N]
1	3:1	3	1
2	9:6:1	3:1	3:1
3	27:27:9:1	9:6:1	9:6:1
4	81:108:54:12:1	27:27:9:1	27:27:9:1
5	243:409:270:117:24:1	81:108:54:12:1	81:108:54:12:1

**3.3.2 混合卤代化合物** 以 PIS Q3 m/z 设为 79 为例,介绍混卤代化合物理论丰度比的计算过程。假设目标物质携带  $N$  个 Br 原子、 $H$  个 Cl 原子,同时当  $N$  个 Br 原子均为  $^{79}\text{Br}$ 、 $H$  个 Cl 原子均为  $^{35}\text{Cl}$  时,其相对分子质量为  $M$ 。该目标物在 PIS Q3 m/z 79 下将产生  $N+H$  个同位素峰,且  $N$  个 Br 原子中至少含有 1 个  $^{79}\text{Br}$ 。任一同位素对应的物质携带  $n$  个  $^{81}\text{Br}$  原子、 $h$  个  $^{37}\text{Cl}$  原子,那么该物质也携带  $N-n$  个  $^{79}\text{Br}$  原子、 $H-h$  个  $^{35}\text{Cl}$  原子。将同位素峰按 m/z 顺序从小到大排列,该同位素情况将位于从小到大的第  $k$  个峰 ( $1 \leq k \leq N+H$ ),且始终满足  $n+h=k-1$ 。

$$P(A) = C_N^n C_H^h P_{79}^{N-n} P_{81}^n P_{35}^{H-h} P_{37}^h \quad (4)$$

将  $h=k-n-1$  代入,得:

$$P(A) = C_N^n C_H^{k-n-1} P_{79}^{N-n} P_{81}^n P_{35}^{H-k+n+1} P_{37}^{k-n-1} \quad (5)$$

且该同位素的响应是原响应的  $\frac{N-n}{N}$ ,

$$P_n = \frac{N-n}{N} \times P(A) = \frac{N-n}{N} \times C_N^n C_H^{k-n-1} P_{79}^{N-n} P_{81}^n P_{35}^{H-k+n+1} P_{37}^{k-n-1} \quad (6)$$

因此,第  $k$  个峰包含若干个上述情况的同位素,其丰度为:

$$P = \sum_{\max(0, k-H-1)}^{\min(N, k-1)} P_n = \sum_{\max(0, k-H-1)}^{\min(N, k-1)} \frac{N-n}{N} \times C_N^n C_H^{k-n-1} P_{79}^{N-n} P_{81}^n P_{35}^{H-k+n+1} P_{37}^{k-n-1} \quad (7)$$

将  $N=1, 2, 3$  等整数、 $H=1, 2, 3$  等整数依次带入算式,可以计算获得不同混合卤代有机物的同位素峰的理论丰度比,列于表 3。

表 3 含氯、溴元素的有机物在两种扫描模式下的理论丰度比

Table 3 Theoretical isotopic abundances of organics (contain both chloride and bromide atoms) for two scan modes

Cl 原子个数 Cl atoms number	全扫描模式 Full Scan Mode [M]: [M+2]: …: [M+2N+2H]	PIS Q3 m/z 79 [M]: [M+2]: …: [M+2N+2H-2]	PIS Q3 m/z 81 [M+2]: [M+4]: …: [M+2N+2H]	PIS Q3 m/z 35 [M]: [M+2]: …: [M+2N+2H-2]	PIS Q3 m/z 37 [M+2]: [M+4]: …: [M+2N+2H]
Br 原子个数 $N=1$ Br atoms number $N=1$					
1	3:4:1	3:1	3:1	1:1	1:1
2	9:15:7:1	9:6:1	9:6:1	1:2:1	1:2:1
3	27:54:36:10:1	27:27:9:1	27:27:9:1	1:3:3:1	1:3:3:1
Br atoms number $N=2$					
1	3:7:5:1	3:4:1	3:4:1	3:4:1	3:4:1
2	9:24:22:8:1	9:15:7:1	9:15:7:1	3:7:5:1	3:7:5:1
3	27:81:90:46:11:1	27:54:36:10:1	27:54:36:10:1	3:10:12:6:1	3:10:12:6:1
Br atoms number $N=3$					
1	3:10:13:6:1	3:7:5:1	3:7:5:1	9:15:7:1	9:15:7:1
2	9:33:46:30:9:1	9:24:22:8:1	9:24:22:8:1	9:24:22:8:1	9:24:22:8:1
3	27:108:171:136:57:12:1	27:81:90:46:11:1	27:81:90:46:11:1	9:33:36:30:9:1	9:33:36:30:9:1

## 3.4 方法的应用

**3.4.1 筛查 CPO 催化咪唑生成的卤代产物** 用本方法筛查 CPO 催化卤代咪唑反应过程中的卤代产物,再借助子离子模式对中间产物进行碎片分析,结果如图 3 和图 4 所示。由图 3A 可见,当卤素离子仅

为  $5 \mu\text{mol/L I}^-$  时, 反应时间为 0 和 16 min 的样品中均仅有溶剂峰出现; 而在反应时间为 240 min 的样品中, RT=5.52 min 处有明显的色谱峰, 此物质的  $m/z=291.8$ 。当  $\text{I}^-$  浓度升高至  $50 \mu\text{mol/L}$  时, 反应时间为 16 和 240 min 样品在 RT=5.52 和 7.87 min 均有物质检出,  $m/z$  分别为 291.8 和 417.7 (图 3B)。根据待测物质在子离子模式下产生的结构碎片及其在 PIS Q3  $m/z$  下的出峰情况进行初步鉴定, 推测两种物质分别为一碘代咔唑和二碘代咔唑, 如图 3C~3F 所示。虽然 I 元素不同于 Cl、Br 元素, 不存在丰

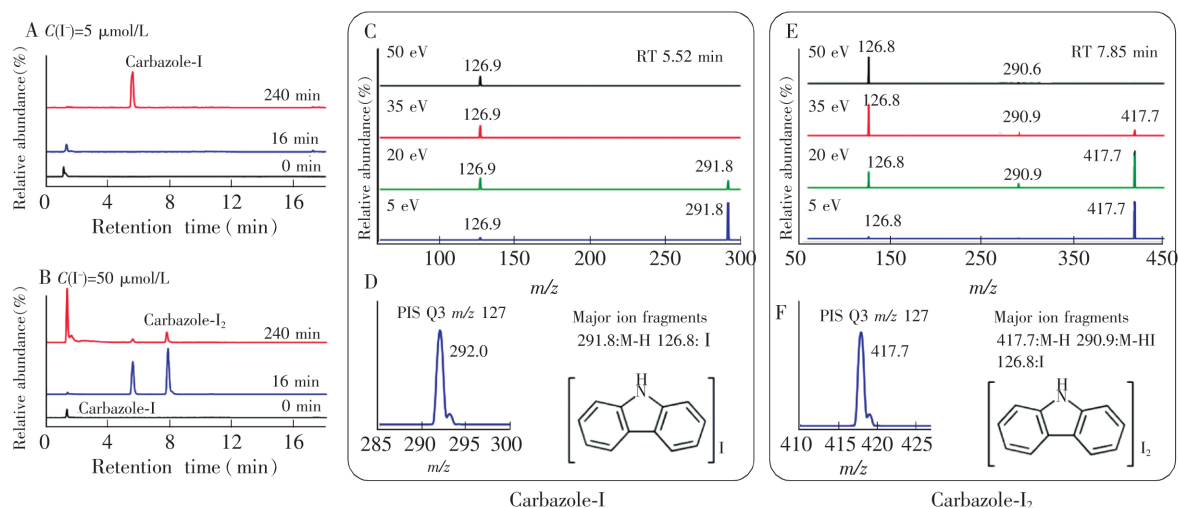


图 3 LC-MS/MS PIS 筛查碘代咔唑

Fig.3 Screen of iodinated carbazoles using liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) PIS

(A) and (B) Chromatograms analyzed in liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) (ESI<sup>-</sup>) PIS Q3  $m/z$  127; (C) and (E) mass spectra analyzed in LC-MS/MS(ESI<sup>-</sup>) product ion scan mode with different collision energy; (D) and (F) mass spectra analyzed in LC-MS/MS(ESI<sup>-</sup>) PIS Q3  $m/z$  127.

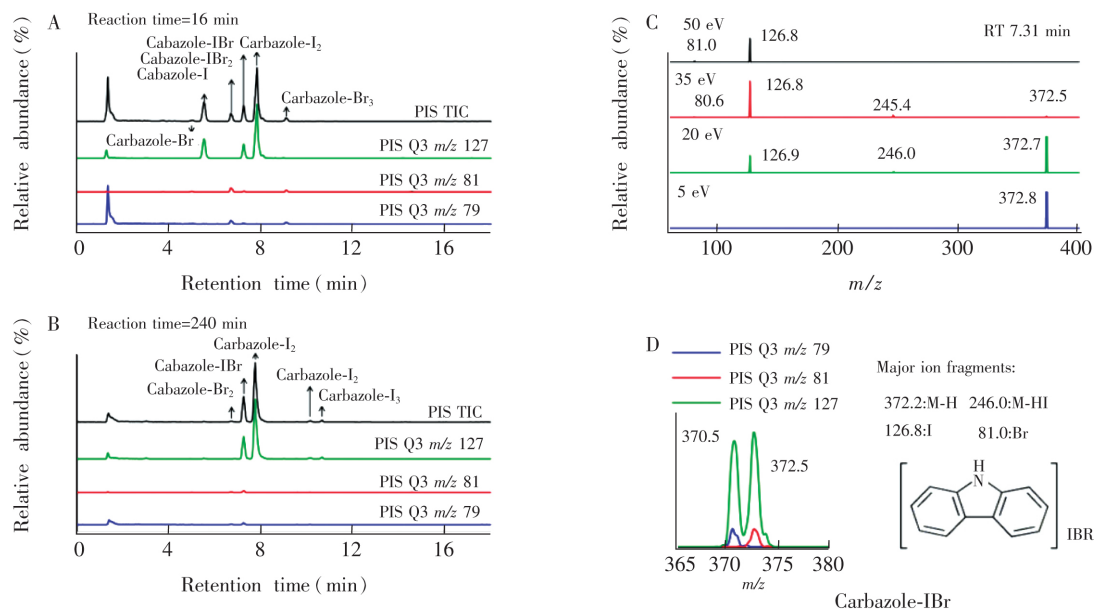


图 4 LC-MS/MS PIS 筛查混合卤代咔唑

Fig.4 Screen of mixed halogenated carbazoles using LC-MS/MS PIS

(A) and (B) Chromatograms analyzed in LC-MS/MS(ESI<sup>-</sup>) PIS Q3  $m/z$  79,81 and 127; (C) mass spectra analyzed in LC-MS/MS(ESI<sup>-</sup>) product ion scan mode with different collision energy; (D) mass spectra analyzed in LC-MS/MS(ESI<sup>-</sup>) PIS Q3  $m/z$  79,81 and 127.

度相近的天然同位素,但在子离子模式测定中,碘代有机物的谱图中能观察到 I 原子丢失后的碎片峰,也能判断物质的碘代数量。

鉴于 LC-MS/MS 的 PIS 能完成 4 个 PIS Q3  $m/z$  的同时监测,本研究尝试同时进行两种卤代有机物 (Cl/Br、Br/I 或 Cl/I) 的组合筛查。将 CPO 催化反应体系的卤离子调整为  $\text{Br}^-$ 、 $\text{I}^-$  混合,且  $\text{I}^-$  和  $\text{Br}^-$  初始浓度分别为 50 和 1 mmol/L。当反应时间为 0 min 时无目标物检出;而当反应时间为 16 min(图 4A) 和 240 min(图 4B) 时,筛出目标物数量分别为 6 和 5 种。随后,对捕获的目标物逐一进行初步鉴定,这 8 种卤代咪唑分别是  $\text{-I}$ 、 $\text{-I}_2$ 、 $\text{-I}_3$ 、 $\text{-Br}$ 、 $\text{-Br}_2$ 、 $\text{-Br}_3$ 、 $\text{-IBr}$  和  $\text{-IBr}$ 。以  $\text{RT}=7.25$  min 的中间产物为例(图 4C 和 4D),对鉴定过程进行简单介绍。PIS Q3  $m/z$  127 下能观察到一组  $m/z$  370.8/372.8 的同位素峰,在 PIS Q3  $m/z$  79 和 81 下各观察到一个同位素峰, $m/z$  分别为 370.8 和 372.8,且同位素丰度比均为 1:1,说明此物质含有一个 Br 原子和至少一个 I 原子。再通过解析其在子离子模式下产生的碎片,发现此物质有且仅有一个 I 原子,故推测该物质为一溴一碘混合卤代咪唑。

根据文献[17,19]的 GC-TOF MS 和 GC-MS 分析结果,在仅含  $\text{Br}^-$  的反应体系中,CPO 能够催化咪唑先后生成一溴取代咪唑、二溴取代咪唑等溴代咪唑,而在  $\text{Br}^-$ 、 $\text{Cl}^-$  混合的反应体系中,CPO 既能催化咪唑生成单卤代咪唑,也能生成混合卤代咪唑,这与本研究的筛查结果一致。

**3.4.2 筛查海水中的卤代有机物** 环境水体中的卤代有机物不仅种类繁多,结构和性质差异明显,浓度水平普遍较低( $\text{ng/L}$  级别甚至更低),因此采用 PIS 模式分析前须对水环境样品中的有机物进行富集。富集方法参照水样多种有机物同时分析前处理方法<sup>[18]</sup>,选择宽极性范围的 Oasis HLB 柱作为富集材料,对水环境样品中有机物质进行富集。在 PIS Q3  $m/z$  设为 35、37 时,站位 A、B 采集的样品均无目标物检出;而当 PIS Q3  $m/z$  设为 79、81 时,A 站位可以筛查到溴代有机物,站点 B 无检出(图 5A 和 5B)。根据目标物在 PIS 下的  $m/z$  情况,发现 A 站位检出的两种溴代有机物分别为二溴代有机物(图 5C)和三溴代有机物(图 5D),但由于样品浓度较低、缺少其它特征碎片离子作辅助定性、质谱分辨率有限等原因,无法进一步推测其详细结构。Zhang 等<sup>[11]</sup>在建立 PIS 模式筛查极性溴代有机物方法时,直接进样,并未选择色谱作为前端分离手段。但由图 5 可见,在 PIS Q3  $m/z$  79 的通道上存在一定的仪器干扰或环境基底干扰,若不采用色谱进行分离,可能造成样品假阳性。未来的实际应用中,仍需将色谱和 PIS 结合使用,以达到最佳分析效果。

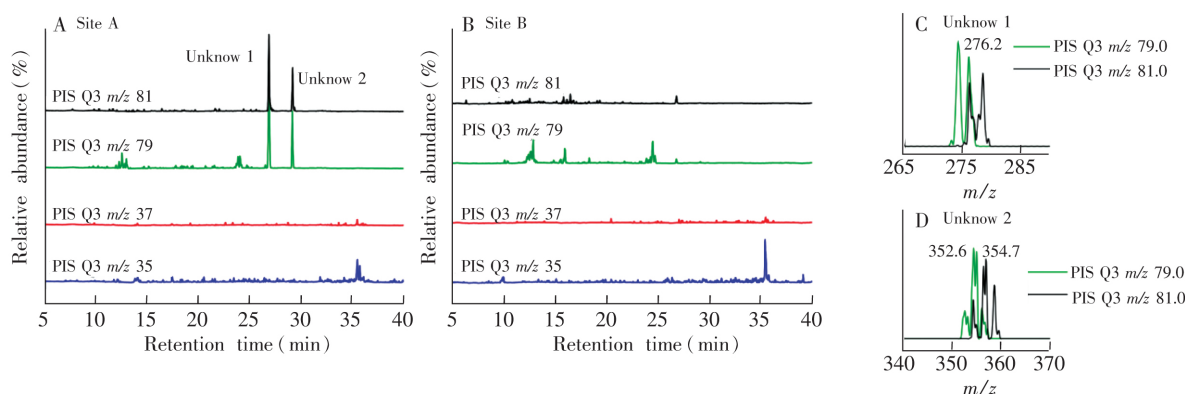


图 5 LC-MS/MS PIS 筛查海水中卤代有机物

Fig.5 Screen of halogenated organic compounds in seawater samples using LC-MS/MS PIS (A) and (B) Chromatograms analyzed in LC-MS/MS(ESI<sup>-</sup>) PIS Q3  $m/z$  35, 37, 79 and 81; (C) and (D) mass spectra analyzed in LC-MS/MS(ESI<sup>-</sup>) PIS Q3  $m/z$  35, 37, 79 and 81.

## References

- JIN Li-Juan, CHEN Bao-Liang. *Prog. Chem.*, **2017**, 29(9): 1093-1114  
金梨娟,陈宝梁. *化学进展*, **2017**, 29(9): 1093-1114
- Gribble G W. *Environ. Chem.*, **2015**, 12(4): 396-405

- 3 Katsoyiannis A , Samara C. *Environ. Res.* , **2005** , 97( 3) : 245–257
- 4 Keith L , Telliard W. *Environ. Sci. Technol.* , **1979** , 13( 4) : 416–423
- 5 Bigot M , Hawker D W , Cropp R , Muir D C G , Jensen B , Bossi R , Nash S M B. *Environ. Sci. Technol.* , **2017** , 51( 16) : 8944–8952
- 6 Dofour P , Pirard C , Charlier C. *J. Chromatogr. B* , **2016** , 1036–1037: 66–75
- 7 Chi X Y , Liu J Y , Yu M , Xie Z Q , Jiang G B. *Talanta* , **2017** , 164: 57–63
- 8 Hauler C , Vetter W. *Rapid Commun Mass Spectrom.* , **2015** , 29( 7) : 619–628
- 9 Ubukata M , Jobst K J , Reiner E J , Reichenbach S E , Tao Q P , Hang J L , Wu Z P , Dane A J , Cody R B. *J. Chromatogr. A* , **2015** , 1395: 152–159
- 10 Steen H , Kuster B , Fernandez M , Pandey A , Mann M. *Anal. Chem.* , **2001** , 73( 7) : 1440–1448
- 11 Zhang X R , Talley J W , Boggess B , Ding G , Birdsell D. *Environ. Sci. Technol.* , **2008** , 42( 17) : 6598–6603
- 12 Liu P , Huang Y Q , Cai W J , Yuan B F , Feng Y Q. *Anal. Chem.* , **2014** , 86( 19) : 9765–9773
- 13 Crevelin E J , Possato B , Lopes J LC , Lopes N P , Crotti A E M. *Anal. Chem.* , **2017** , 89( 7) : 3929–3936
- 14 LI Huan , LI Zheng-Kui , LI Ai-Ming , ZHOU Qing , WANG Ying , PAN Yang. *Environ. Sci.* , **2017** , 38( 8) : 3273–3280  
李欢, 李正魁, 李爱民, 周庆, 王莹, 潘阳. *环境科学* , **2017** , 38( 8) : 3273–3280
- 15 Du L L , Xue Y , Xie J. *Chromatographia* , **2018** , 81( 5) : 769–776
- 16 Pan Y , Zhang X. *Environ. Sci. Technol.* , **2013** , 47( 3) : 1265–1273
- 17 Chen Y Q , Lin K D , Chen D , Wang K , Zhou W X , Wu Y , Huang X W. *Environ. Pollut.* , **2018** , 232: 264–273
- 18 LIN Shan-Shan , YI Qi-Tong , HONG Jia-Jun , CHEN Meng , YUAN Dong-Xing. *Chinese Journal of Chromatography* , **2013** , 31( 10) : 980–988  
林姗姗, 易启同, 洪家俊, 陈猛, 袁东星. *色谱* , **2013** , 31( 10) : 980–988
- 19 Mumbo J , Lenoir D , Henkelmann B , Schramm K W. *Environ. Sci. Pollut. Res.* , **2013** , 20( 12) : 8996–9005

## Non-target Screening of Halogenated Organic Compounds Using Liquid Chromatography–Tandem Mass Spectrometry Precursor Ion Scan

WANG Kun<sup>1</sup> , HUANG Xin-Wen<sup>2</sup> , LIN Kun-De<sup>\* 1</sup>

<sup>1</sup>( The Fujian Provincial Key Laboratory for Coastal Ecology and Environmental Studies ,  
Center for Marine Environmental Chemistry and Toxicology ,  
College of the Environment and Ecology , Xiamen University , Xiamen 361102 , China)

<sup>2</sup>( College of Environment , Zhejiang University of Technology , Hangzhou 310014 , China)

**Abstract** A new analytical method based on liquid chromatography–tandem mass spectrometry ( LC-MS/MS) precursor ion scan ( PIS) was developed for the non-target screening of halogenated organic compounds ( HOCs) . Briefly , fragmented halogen ions from the precursor of HOCs could pass Q3 channels fixing at  $m/z$  35 , 37 , 79 , 81 and 127 , and the corresponding precursors were simultaneously recorded in Q1. Therefore , the halogenated species and molecular ions of HOCs could be inferred from the selection of Q3 and Q1. Results showed that PIS had a higher sensitivity to HOCs when the collision energy in Q2 was set at 50 eV. Bernoulli experiment models were used to calculate theoretical isotopic abundances of HOCs. This method was successfully applied to the screening of HOCs in laboratory reaction samples and seawater. This work suggested that PIS was potentially an effective tool for the non-target screening of HOCs in various environmental matrices.

**Keywords** Liquid chromatography–tandem mass spectrometry; Precursor ion scan; Halogenated organic compounds; Isotopic abundance

( Received 31 May 2018; accepted 14 August 2018)

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China ( No. 21477115 , 21876142) .