

应用气相色谱联用 Orbitrap 高分辨质谱仪 分析水中的消毒副产物

Cristian Cojocariu,¹ Cristina Postigo,² Susan D. Richardson,³ Damia Barcelo,^{2,4} and Paul Silcock¹

¹Thermo Fisher Scientific, Runcorn, UK

²Institute of Environmental Assessment and Water Research, (IDAEA-CSIC) Water and Soil Quality Research Group, Department of Environmental Chemistry, 08034 Barcelona, Spain

³University of South Carolina, Department of Chemistry and Biochemistry, Columbia, SC 29208, U.S.A.

⁴Catalan Institute for Water Research (ICRA), Parc Científic i Tecnològic de la Universitat de Girona, 17003 Girona, Spain

关键词

碘消毒副产物、水、精确质量数、高分辨、Q Exactive GC

前言

饮用水使用之前必须经历消毒处理过程，以保护消费者远离潜在水源性感染疾病以及寄生虫病原体。水的消毒主要依赖化学消毒剂，例如游离氯、氯胺、二氧化氯和臭氧。尽管消毒步骤可以有效去除致病微生物，但是化学消毒剂可与水中的天然物质反应，产生对人体有害的消毒副产物（DBPs），尤其是含碘类物质，如碘化 DBPs（iodo-DBPs），与溴化和氯化相类似的化合物相比，其可对暴露人群造成更严重的健康威胁。¹ 近年来，相关文献报道了多种化学类别的低分子量碘化 DBPs；但仍有大量存在于消毒步骤卤化材料中的此类物质未被发现（~50%）。² 因此，对 DBP 混合物中的碘化 DBPs 进行全面鉴定研究对于未来检测消毒净化水中此类物质的存在及其潜在的毒性效应来说尤为关键。

由于基质的复杂性以及目标化合物低含量等特点，鉴定水中形成的碘化 DBPs 难度较大。为此，研究人员需要采用高分辨率、高质量数精度和高灵敏度的分析技术来解决这一难题。本文采用了一种全新的气相色谱（GC）联用高分辨精确质量 Orbitrap 质谱仪（Thermo Scientific™ Q Exactive™ GC 组合型四极杆-Orbitrap 质谱仪）用于碘化 DBPs 检测，并应用精确质量对氯化物和氯胺消毒的水样本进行定性分析。



实验部分

样品制备

DBPs 的形成主要与所采用的消毒反应类型以及水源中的天然有机物（NOM）、溴化物、碘化物含量有关。为了研究含碘水样品中碘化 DBPs 的产生，我们分别进行了实验室规模的氯化反应和氯胺反应。

检测水样为含有国际腐殖质协会（IHSS）参比物质—来源于北欧水库（NL）（Vallsjoen, Skarnes, 挪威）NOM 的 Milli-Q® 水溶液，并加入溴化物（500 ppb KBr）和碘化物（500 ppb KI）。之后采用氯和一氯胺进行消毒反应，通过 XAD 树脂提取水样本，并使用乙酸乙酯洗脱吸附的待测物。将经过干燥和浓缩处理后的提取物直接注入 Q Exactive GC 系统进行碘化 DBPs 分析。

消毒反应之后的处理步骤以及 DBP 分析细节参考其他文献。³

将未经处理的水样采用与处理水样相同的浓缩步骤进行前处理，并作为空白样本用以判断所检测和鉴定的化合物是消毒处理过程中产生的副产物还是样品前处理步骤的人工产物。

GC-MS 仪器条件

化合物通过 Thermo Scientific™ TRACE™ 1310 气相色谱系统联用 Thermo Scientific Q Exactive GC 组合型四极杆-Orbitrap 质谱仪实现分离检测。样品进样采用 Thermo Scientific™ TriPlus™ RSH 自动进样器。分析色谱柱为 Thermo Scientific™ TG-5MS (60 m × 0.25 mm 内径 × 0.25 μm 膜厚, P/N: 26096-1540)。其他仪器参数详见下表 (表 1 和表 2)。

表 1. GC 升温程序

TRACE 1310 GC 参数	
进样体积 (μL):	1.0
衬管:	Single taper, wool (P/N 453A0924-UI)
进样口温度 (°C):	280
进样模式:	不分流
载气, 流速 (mL/min):	氦气, 1.2
柱温箱升温程序	
温度 1 (°C):	40
保持时间 (min):	1
温度 2 (°C):	325
升温速率 (°C/min):	15
保持时间 (min):	10

表 2. 质谱仪参数

Q Exactive GC 质谱参数	
传输线温度 (°C):	280
离子化类型:	EI 和 CI (甲烷)
离子源温度 (°C):	230 (EI), 185 (CI)
电离能量 (eV):	70
数据采集模式:	一级全扫描
质量范围 (Da):	50-650
分辨率 (FWHM 在 m/z 200 处):	60,000
质量锁定, 柱流失 (m/z):	207.03235

数据处理

应用 Thermo Scientific™ TraceFinder™ 软件进行数据采集和处理, 通过谱图解卷积进行峰检测, 并与商业化标准谱图库 (NIST) 比对, 推测化合物结构。为了降低基质中的化学物质干扰, 我们将提取离子流的质量数容许窗口范围设置为 ± 2 ppm, 以获取具备高度选择性的提取离子流色谱图。实验还分析了半定量信息 (峰面积), 并通过样品间比较来找出经过处理样品中的独特化合物。

结果与讨论

采用一级全扫描模式分析来自实验室规模氯化反应和氯胺反应的 DBP 混合浓缩物。下图 1 展示了未经处理的质控样品与氯化反应样品的色谱图。

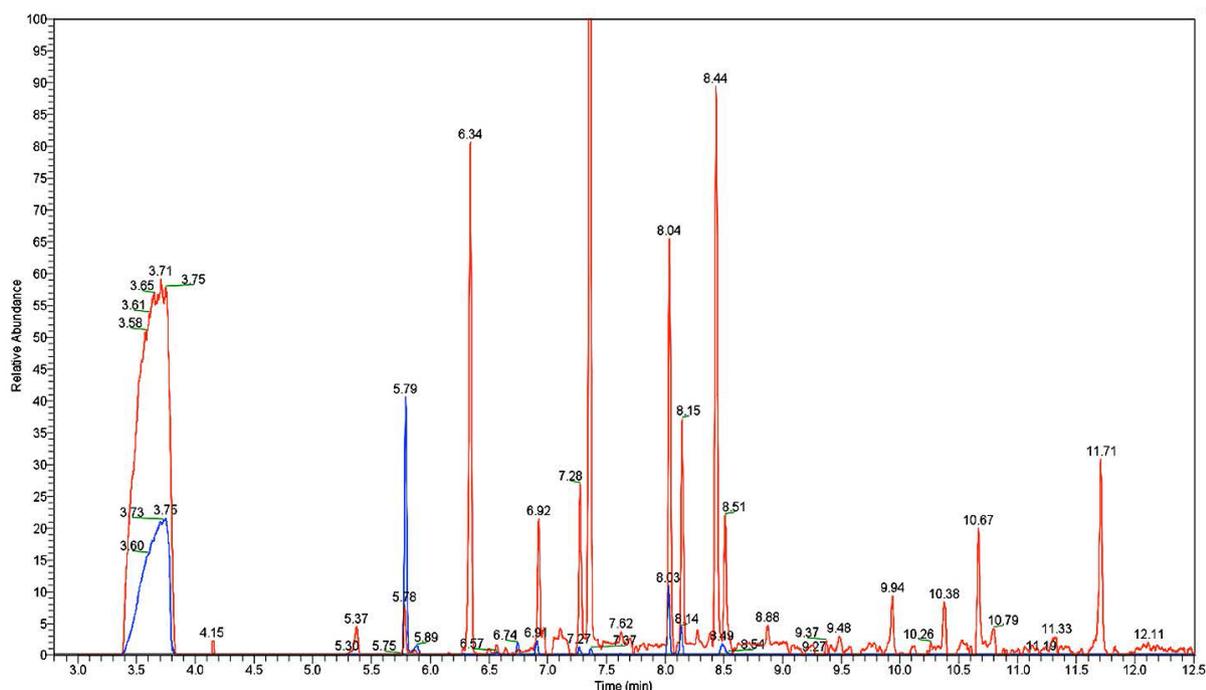


图 1. 添加天然有机物质 (NL NOM) 的 Milli-Q 水样经氯化反应处理样品 (红色) 与未经处理的质控样品 (蓝色) 的提取离子流重叠图 (m/z 126.903902, 碘) 表明, 与质控样品相比, 氯化处理水样中的含碘色谱峰数量和响应强度均有提高。

化合物检测工作流程

图 2 以图表形式展示了碘化 DBPs 的检测和分子结构鉴定工作流程。应用 TraceFinder 软件处理电子轰击电离 (EI) 的一级全扫描数据, 经峰检测和谱图解卷积处理后, 使用标准谱图库 (NIST) 检索和高分辨过滤分值 (HRF) 对目标化合物进行结构鉴定。解卷积软件将 HRF 评分作为谱库检索标准。对于每个与谱库匹配的化合物结果来说, HRF 代表了测试谱图中, 与标准谱图中碎片离子最佳元素组成 (基于正匹配检索指标 SI 值) 比照可解释的离子的相对数量。

对所有 DBP 混合物同时进行数据处理 (包括未经处理的 NL NOM、氯化反应 NL NOM 和 氯胺反应 NL NOM)。经解卷积处理后, 软件检测到大量色谱峰 (例如, 我们在氯胺反应 NL NOM 提取物样品总离子流色谱图 (TIC) 中, 以响应强度值 500,000、信噪比 (S/N) 10:1 为限, 共找出 2,500 余个离子流色谱峰)。寻找到大量化合物峰对于样品的广泛分析非常有利。然而, 这也需要研究人员能够在单个样品内或不同样品组间快速筛选出感兴趣的化合物。在本次研究中, 我们采用精确质量过滤分离出含有碘的化合物 (精确质量 m/z 126.90392)。该方法极大缩小了上述样品中含碘化合物的分析范围, 例如氯胺反应 NL NOM 提取物分析结果仅包括 15 个主要色谱峰。

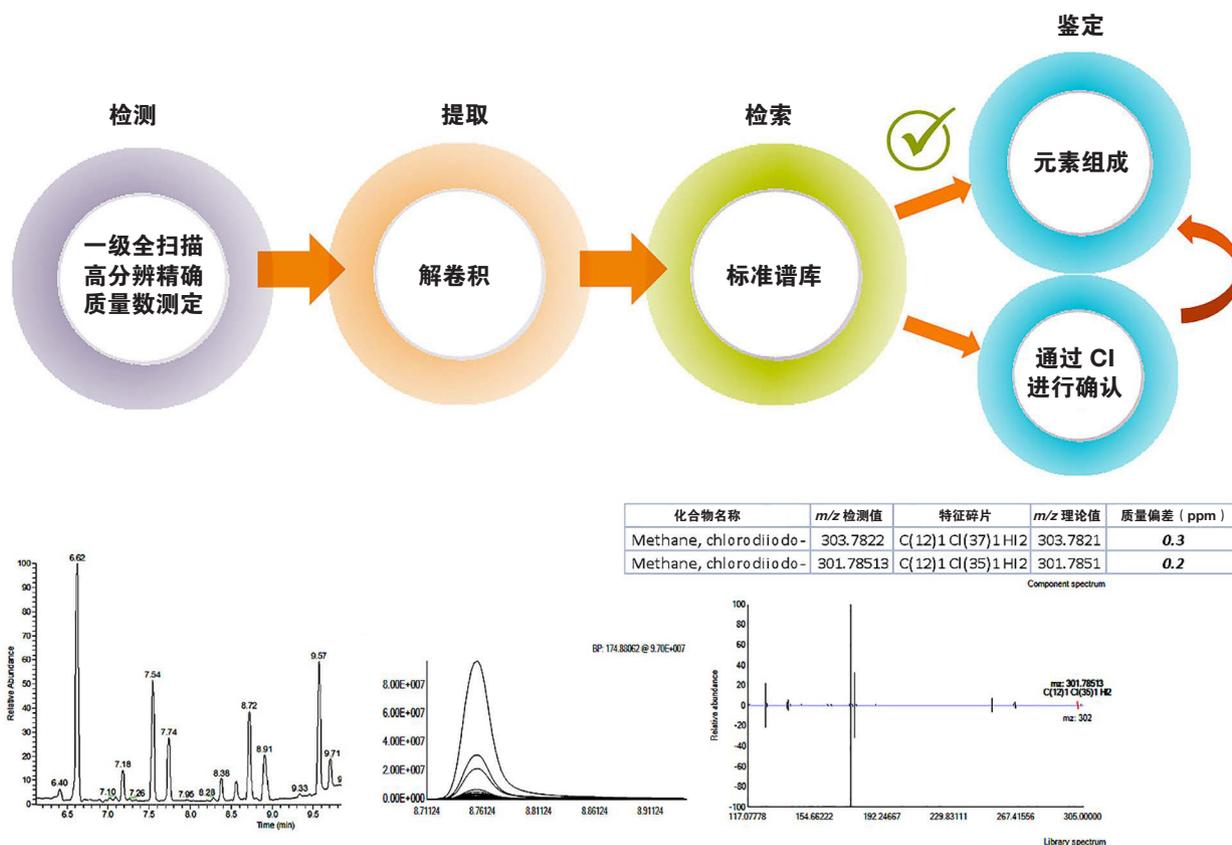


图 2. 针对碘化 DBPs 谱图解卷积峰检测和化合物结构推测的化合物检测流程。

图 3 以氯二碘甲烷为例，展示了 TraceFinder 软件离子流峰解卷积界面。目标样本 (a) 经解卷积处理生成一个峰列表 (b)。通过检索 NIST 标准谱库并参考正匹配检索指标 (SI) 推测化合物结构。此外，采用 HRF 评分来评价与标准谱库匹配化合物的碎片离子元素组成相比较，测试谱图中可被解释的

碎片离子的百分比，此例中 CHCl_2 代表氯二碘甲烷。由此产生一个综合总评分以表明谱库匹配结果与解卷积测试谱图的匹配程度。这一功能使得本软件成为一种化合物鉴定确证的独特、有力的工具。



图 3. 二氯碘甲烷鉴定的解卷积结果界面，化合物鉴定基于标准谱库 (NIST) 正匹配搜索指标 (SI 963)、碎片离子合理化评价 HRF > 99% 和测试碎片离子的质量精度 (例如，分子离子 m/z 301.78513 质量偏差 = 0.23 ppm) 进行。样品处理 (a)、峰检测 (b)、鉴定化合物 (c) 和标明测试离子和理论离子及相关质量数偏差的二氯碘甲烷的解卷积质谱图 (d)。

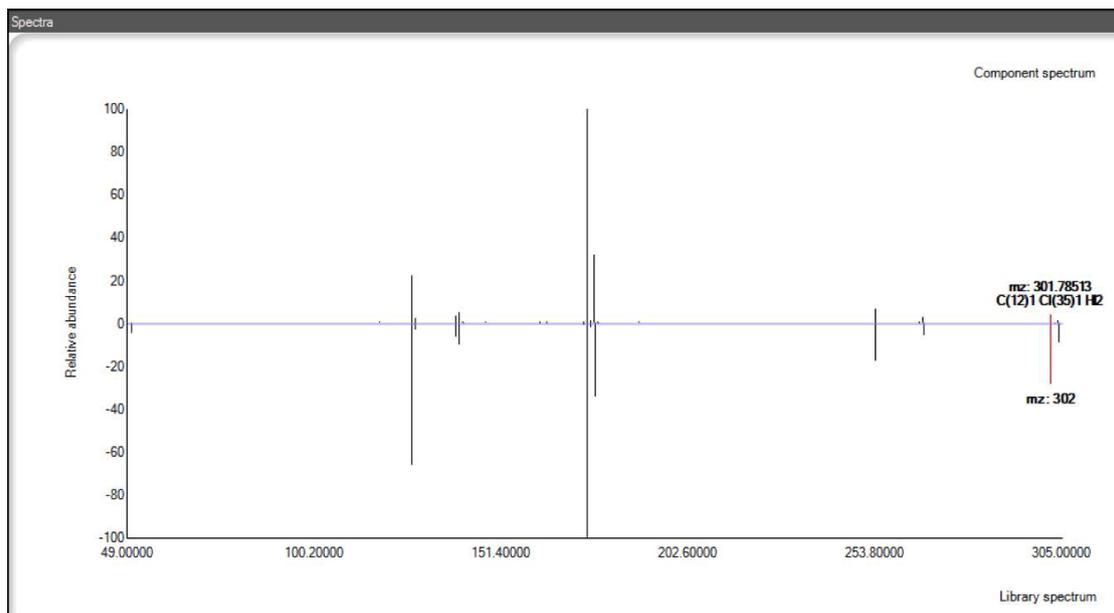


图 4. a) 氯胺反应 NL NOM 提取物中的二氯碘甲烷 (RT = 8.77 min) 的质谱图及相应的精确质量数 (ppm) 和元素组成, b) 标准质谱谱图。数据是在 EI 模式下, 质量分辨率设置为 60,000 (在 m/z 200 处) 时采集而得的。图中标注了实测到的、根据 NIST 谱库可由 CHCl_2 产生的碎片离子。测试谱图中的每个离子均自动计算其元素组成, 并标注精确质量数及质量数偏差 (ppm)。

鉴定无谱图库匹配结果的碘化 DBPs

当然，还有许多化学污染物无法在 NIST 谱库（或者其他类似谱图库）中检索到相应结果，在这种情况下，我们需采取不同的方法来研究此类化合物特性（元素组成和化学结构）。这时能够获取具备高质量精度的数据显得尤其关键，因为只有通过质量数偏差较小的质谱数据，才能够对未知化合物进行准确的元素组成推测。

本次研究中，在经过处理的水样中被检测到且其 EI 质谱图没有在 NIST 谱图库中匹配到结果的化合物，均采用预设的化学元素组成范围（C-50、H-50、Br-5、Cl-10、I-10、O-10 和 N-10）进行元素组成推算。并通过采用甲烷作为反应气的正化学电离模式（PCI）数据对目标化合物的分子离子进行确认。此外，我们还分析了可靠的标准物质，以验证诸如色谱保留时间、EI 谱图比对和测试离子质量精度等特征信息。图 5 以碘乙醛为例，展示了未在 NIST 谱图库中检索到匹配结果的未知化合物的鉴定。

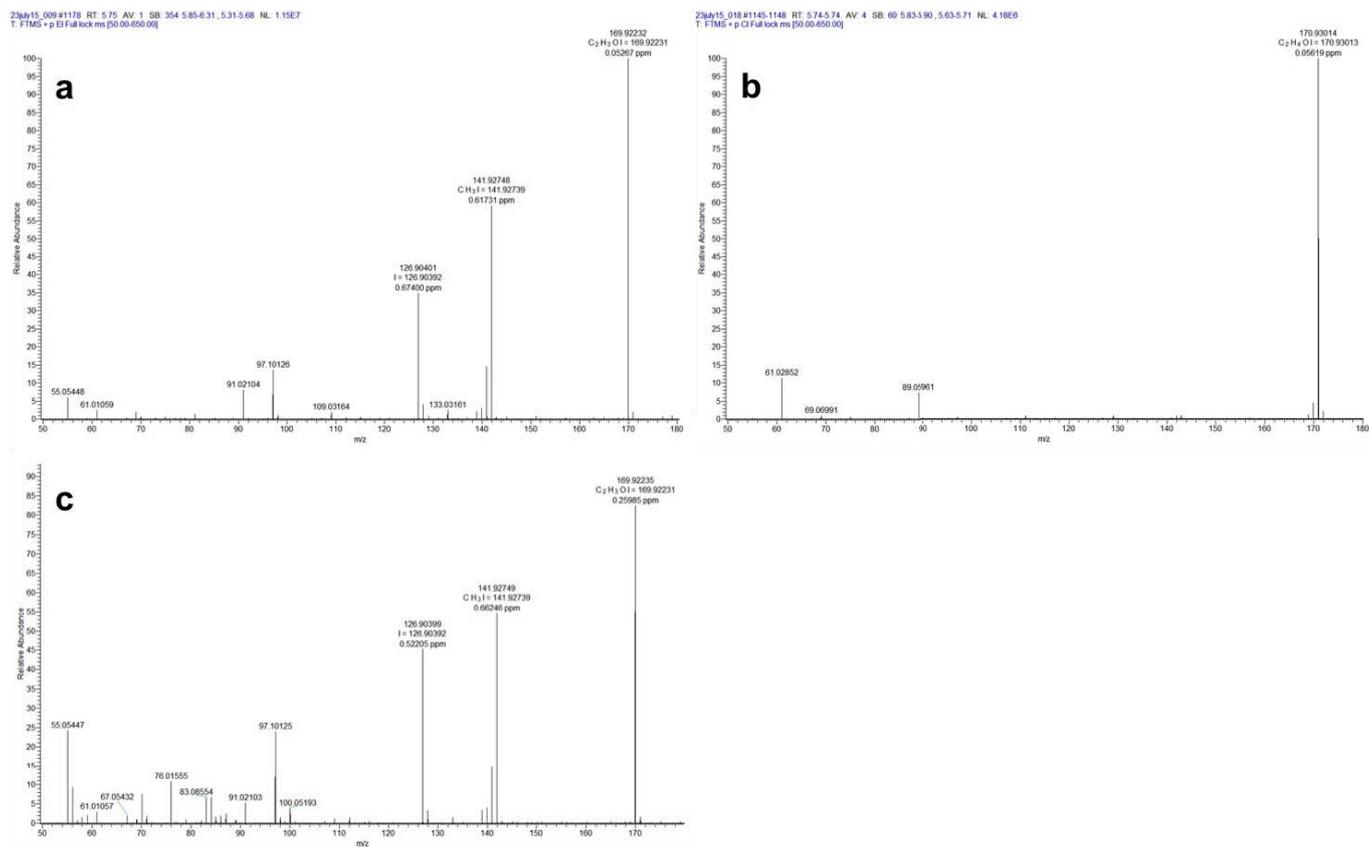


图 5. 基于可靠的标准溶液 (a) 与 NL 经处理的样品 (c) 测试数据中色谱保留时间和质量精度测定对碘乙醛的鉴定结果进行确证。通过正化学电离 (PCI) 质谱图确认了分子离子 $[M+H]^+$ ，质量偏差为 0.06 ppm。

样品比较及碘化 DBPs 的含量变化

TraceFinder 软件除了能够鉴定目标离子流色谱峰外，还可以将样品分组以利于分析，并将所检测到的化合物含量倍数变化实现可视化展示。所有样品中检测到的化合物根据色谱保留时间对齐，并自动比较其峰面积，从而生成一个热图（图 6）。这样的半定量分析方式有助于研究人员对所检测到的化合物含量水平进行快速浏览并出具报告。

经氯胺 (NH_2Cl) 反应的样品中碘化 DBPs 的含量水平提高，这与之前的文献报道结果相符。⁵ 通过上述的化合物鉴定流程，在分析提取物中准确鉴定了八种不同的碘化 DBPs。应用上一部分描述的工作流程，我们推测出了所有目标化合物的化学结构。表 3 为 EI 模式和以甲烷为反应气体的 PCI 模式下的分子离子实测值和理论值、相应的质量数偏差 (Δ ppm)、各诊断离子的元素组成推测结果以及所鉴定出的 DBPs 推测化学结构式。

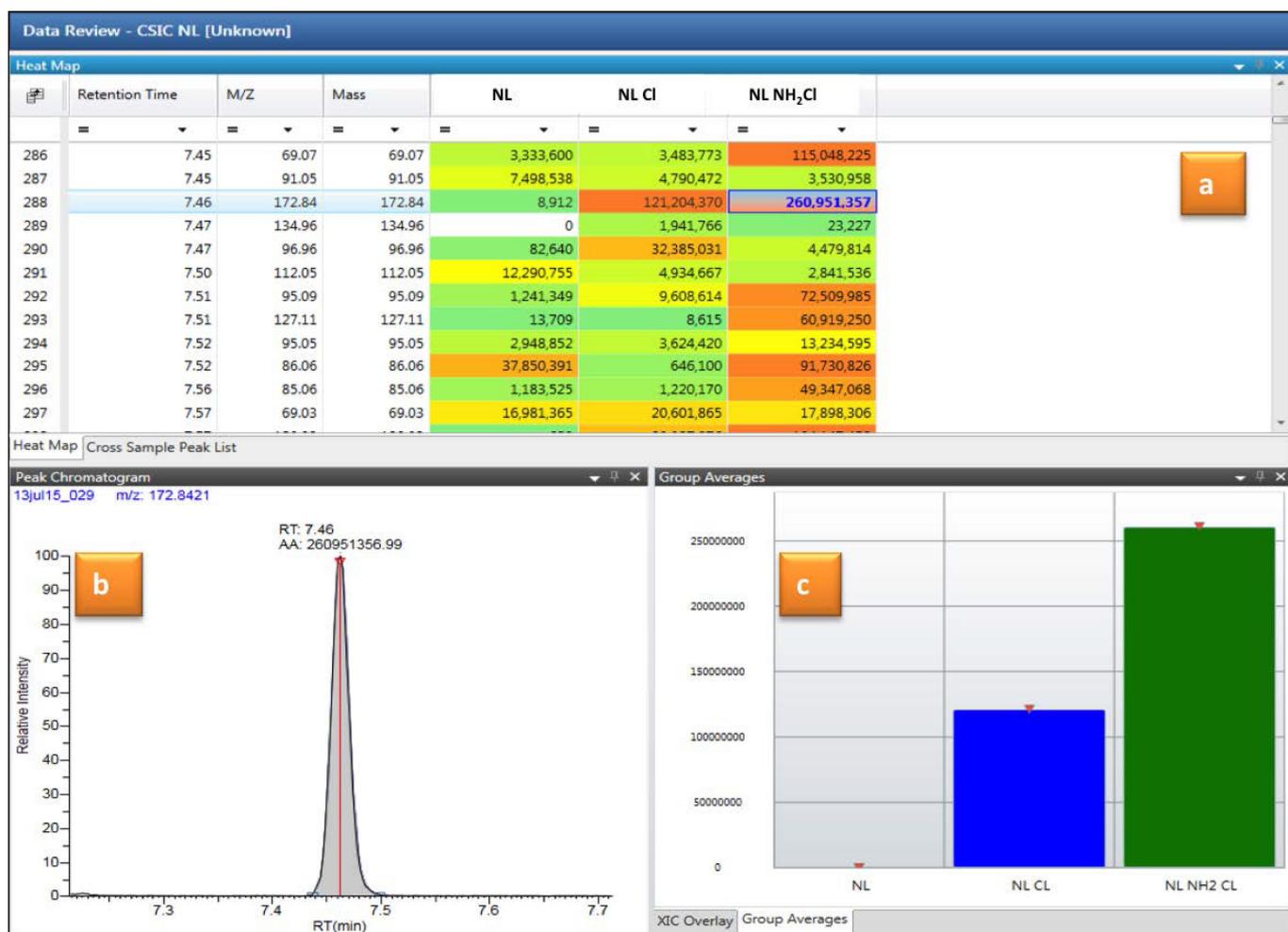


图 6. TraceFinder 软件展示根据检测到的离子流色谱峰 (a) 峰面积生成热图的界面，图中以色谱保留时间为 7.46 min、含量出现升高的化合物为例，显示了相应提取离子流色谱图 (b) 和分析样品中该化合物的丰度 (c)。

表 3. 经消毒处理的 NL NOM 水样中鉴定和确证的碘化 DBPs。

色谱保留时间 (min)	鉴定结果	元素组成	化学结构	理论 m/z (EI)	实测 m/z (EI)	Δ (ppm)	理论 m/z [M+H] ⁺	实测 m/z [M+H] ⁺	Δ (ppm)
3.71	碘甲烷	CH ₃ I	<chem>C-I</chem>	141.92739	141.92745	0.4	142.93522	142.93522	0.0
5.36	氯碘甲烷	CH ₂ ClI	<chem>Cl-CH2-I</chem>	175.88842	175.88839	0.2	176.89625	176.89620	0.3
5.76	碘乙醛	C ₂ H ₃ IO	<chem>I-CH2-CHO</chem>	169.92231	169.92234	0.2	170.93013	170.93014	0.06
7.36	二碘甲烷	CH ₂ I ₂	<chem>I-CH2-I</chem>	267.82404	267.82424	0.8	268.83186	268.83192	0.2
8.03	碘乙酸乙酯	C ₄ H ₇ IO ₂	<chem>CCOC(=O)CH2I</chem>	213.94852	213.94840	0.6	214.95635	214.95627	0.4
8.14	碘化乙烯	C ₂ H ₃ I	<chem>I-CH=CH2</chem>	153.92739	153.92742	0.2	154.93522	154.93519	0.2
8.77	二氯碘甲烷	CHCl ₂ I	<chem>ClC(Cl)I</chem>	301.78507	301.78509	0.1	301.78507	301.78511	0.1
9.85	一溴二碘甲烷	CHBrI ₂	<chem>BrC(I)I</chem>	345.73455	345.73459	0.1	345.73455	345.73446	0.3

各测试样品对比结果表明，与氯化反应提取物相比，氯胺反应提取物中的 DBPs 水平显著提高。氯胺反应提取物中相关峰面

积 (m/z 126.90392 的提取离子流图) 为氯化反应提取物的 8 到 66 倍，其中，二碘甲烷含量差异高达 145 倍 (图 7)。

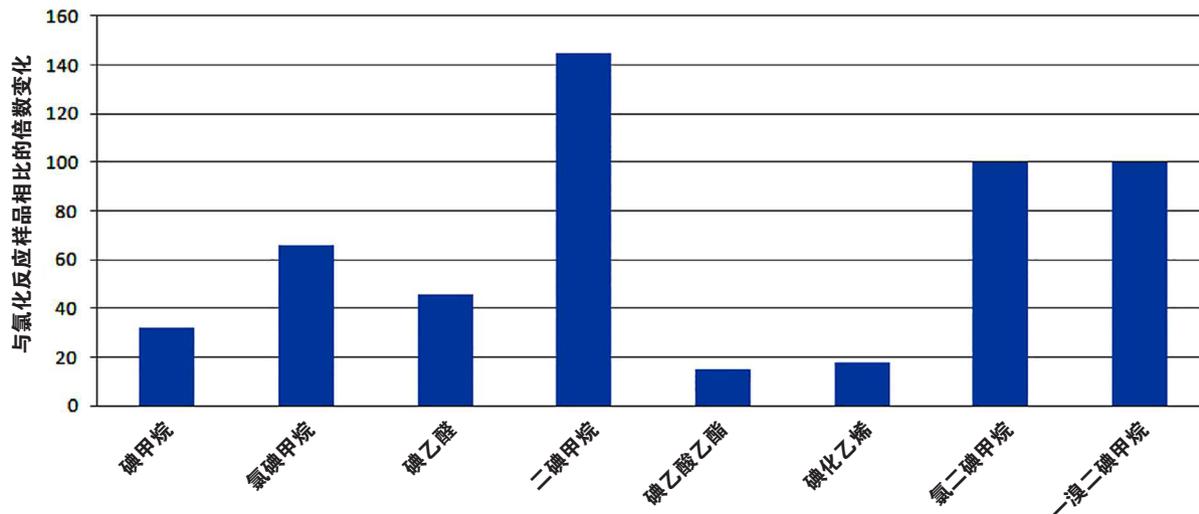


图 7. 与氯化反应样品相比，氯胺反应 DBP 混合物中的检测鉴定到的碘化 DBPs 的含量倍数变化。

总结

- 本次测试应用 Q Exactive GC 系统成功对经消毒处理后的水样提取物中的碘化 DBPs 进行了检测分析。
- 测试样品中检测到大量离子流色谱峰，通过应用 TraceFinder 软件的精确质量过滤功能单独分离出含碘化合物。暴露于氯胺反应的样品中的碘化 DBPs 含量显著高于经氯化反应处理的样品。
- 将采集到的 EI 数据与现有商业化标准谱图库相匹配，可鉴定目标化合物结构。重要的是，通常情况下，有很多检测到的化合物并未被此类标准谱图库收录，这时唯有通过稳定的亚-ppm 级质量精度测定结果才能够对未知化合物进行准确的元素组成及化学结构推测。
- 此外，以甲烷作为反应气体的正化学电离的软电离模式可用于确证化合物的分子离子。
- 本文所采用的 Q Exactive GC 质谱仪以及化合物检测鉴定流程可对经消毒处理水样中的未知 DBPs 进行快速检测和可信鉴定，有助于研究人员对未知化学物质进行可靠的、及时的分析报告。
- 峰宽为 3 秒。图 5 展示了不同质量分辨率条件下，同一色谱峰的扫描点数的变化，即使在最高质量分辨率（120,000 FWHM 在 m/z 200 处）下，仪器仍然能够采集到足够的扫描点用于准确的峰面积积分计算。此外，图 6 展示了在质量分辨率为 60,000 时，色谱峰中每个扫描点的质量精度，所有点均保持稳定良好的质量精度，偏差均小于 0.3 ppm。

致谢

作者感谢来自欧盟第七框架计划（FP7/2007-2013）下资助协议 274379（Marie Curie IOF）的支持。本研究由 Generalitat de Catalunya（联合研究小组“2014 SGR 418 – 水质与土壤质量小组”和 392 2014 SGR 291 - ICRA）和用于研究、技术发展和论证的欧盟第七框架计划项下 603437 号资助协议提供资金支持。欧盟不对其中所含信息的任何使用承担责任。

参考文献

1. Richardson SD, Fasano F, Ellington JJ, Crumley FG, Buettner KM, Evans JJ, Blount BC, Silva LK, Waite TJ, Luther GW, McKague AB, Miltner RJ, Wagner ED, Plewa MJ. Occurrence and mammalian cell toxicity of iodinated disinfection byproducts in drinking water. *Environ. Sci. Technol.* 2008 42, 8330–8338.
2. Richardson SD, Plewa MJ, Wagner ED; Schoeny R, Demarini DM. Occurrence, genotoxicity, and carcinogenicity of regulated and emerging disinfection by-products in drinking water: a review and roadmap of research. *Mutat Res*, 2007 636: 178-242.
3. Postigo C., Cojocariu Cl., Richardson SD., Silcock P., Barcelo D. Characterization of iodinated disinfection by-products in chlorinated and chloraminated waters using Orbitrap-based gas chromatography-mass spectrometry, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, DOI 10.1007/s00216-016-9435-x.
4. Kwiecien NW, Bailey DJ, Rush MJP, Ulbrich A, Hebert AS, Westphall MS, Coon JJ Accurate mass for improved metabolite identification via high-resolution GC/MS. *Metabolomics 2015 (11th Annual International conference of the Metabolomics Society)*. June 29-July2, 2015. San Francisco Bay Area, CA. USA:- MOB: Informatics: Metabolomics.
5. Krasner SW., Weinberg HS, Richardson SD, Pastor SJ, Chinn R., Scilimenti, M. J, Onstad GD, Thruston AD, Jr. Occurrence of a new generation of disinfection byproducts. *Environ. Sci. Technol.* 2006 40: 7175-7185.



Orbitrap 组学俱乐部



赛默飞小分子质谱应用技术群

赛默飞世尔科技（中国）有限公司

www.thermofisher.com

全国服务热线：800 810 5118
400 650 5118（支持手机用户）

AN 10490_C_GCMSMS_1_201606Y

Thermo
SCIENTIFIC

A Thermo Fisher Scientific Brand