AN 10530_C_GCMSMS_1_201612Y

应用 GC Orbitrap 质谱仪分别进行饮用水中低含量的 N-亚硝基二甲胺（NDMA）定量分析及其他非靶向污染物筛查分析

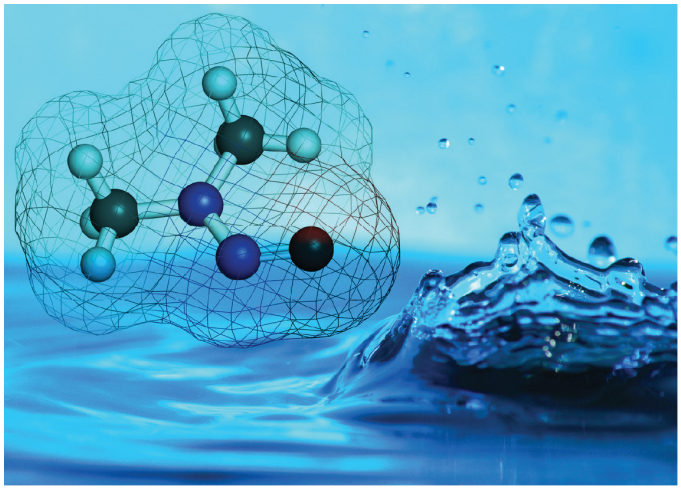
作者： Cristian Cojocariu[1]，Maria José Farré[2]， Sara Insa[2]，Damià Barceló[2, 3] 和 Paul Silcock[1]

[1]Thermo Fisher Scientific，Runcorn，UK；[2]Catalan Institute for Water Research（ICRA），Parc Científic i Tecnològic de la Universitat de Girona，17003 Girona，Spain；[3]Institute of Environmental Assessment and Water Research，（IDAEA-CSIC）Water and Soil Quality Research Group，Department of Environmental Chemistry，08034 Barcelona，Spain

关键词： N-亚硝基二甲胺（NDMA），饮用水，高分辨 GC-MS，精确质量数，非靶向筛查，定量分析，GC Orbitrap，TraceFinder，环境分析

简介

N-亚硝基二甲胺（NDMA），是饮用水中新兴的污染物，其属于半挥发性有机化合物，是亚硝胺类化合物中最为值得关注的一种。 已有证据表明，NDMA 可经消化道或呼吸道摄入，并引起癌症。美国环境保护署（U. S. Environmental Protection Agency）将其归为强致癌物[1]。废水及饮用水中的 NDMA 一般是在氯胺消毒等过程中产生的副产物。[2]目前 NDMA 被认为是一种需要优先控制的染污物，世界多国已引入最大可接受浓度，规定为 9 ng/L[6] 并规定禁售浓度为 10 ng/L[7]。由于低浓度的 NDMA（e. g.，10 ng/L）就足以造成致癌威胁，尤其肝毒性特别大，[1]在饮用水中实现该化合物的检测和准确定量就显得尤为重要。



以往，NDMA 的分析主要是使用单重或三重四极杆气质联用仪（GC-MS），扇形磁场质谱仪或高分辨飞行时间质谱仪。然而，这些仪器往往会在高选择性和高灵敏度之间顾此失彼。选择性降低常常导致分析受困于基质干扰和背景离子的影响，造成 NDMA 检测的假阳性结果或错误的定量结果。[8]追根究底，是由于这些类型的仪器分辨率不够高造成的。

ThermoFisher SCIENTIFIC

本文使用具有高分辨率、高质量精度的 Thermo Scientific™ Exactive™ GC Orbitrap 质谱仪建立了高灵敏度、高选择性的 NDMA 检测和定量分析方法。从灵敏度、质量准确度、重现性和线性范围等几个角度评估了该新型分析平台的定量能力。此外，对于 NDMA 的靶向分析来说，使用全扫描高分辨模式采集数据还支持饮用水样品中其它杂质筛查分析，无需再进行额外进样或复杂的方法参数操作。

实验条件

实验采用配备 Thermo Scientific™ TriPlus™ RSH 自动进样器、Thermo Scientific™ TRACE™ 1310 GC 的 Exactive GC Orbitrap 质谱仪。色谱柱为 Thermo Scientific™ TraceGOLD TG-1701MS，30 m × 0.25 mm × 0.25 µm（P/N：26090-1420）。详细仪器参数参见表 1 和表 2。

使用全氟三丁胺（perfluorotributylamine，PFTBA）进行仪器调谐和校正，可在 5 分钟内达到质量准确度 < 0.5 ppm。为确保选择性足够高，数据采集使用 60,000 分辨率（*m/z* 200，FWHM）进行（表 2）。当 NDMA 检测必须在高化学背景基质中进行且有可能受到基质干扰时，这一点尤为重要。在此条件下，能够确保每个色谱峰至少采集 12 个点，以便色谱峰积分结果稳定、可靠。

表 1. 进样口和气相参数

Trace 1310 GC 参数	
进样量（µL）	2.0
衬管	单鹅颈（P/N 4530924-UI）
进样口温度（℃）	220
进样类型	分流不分流进样口：脉冲不分流模式
脉冲压力（kPa）	385
脉冲时间（min）	1.0
分流流量（mL/min）	80
柱流速（mL/min）	1.5
柱温箱升温程序	
温度 1（℃）	35
持续时间（min）	1
升温速率（℃ /min）	25
温度 2（℃）	130
升温速率（℃ /min）	125
温度 3（℃）	230
持续时间（min）	6

表 2. 质谱参数

Exactive GC 参数	
传输线温度（℃）	260
离子化方式	EI
离子源温度（℃）	230
电子能量（eV）	70
采集模式	Full-scan
质量数范围（*m/z*）	50-650
分辨率（FWHM，*m/z* 200）	60000
锁定质量模式（*m/z*）	207.03235

样品

样品前处理包括一个对水样进行固相萃取（SPE）的步骤，最终样品浓缩 1000 倍[3]。考虑到这一点，在评估 Exactive GC-MS 定量能力时，我们既使用了溶剂标品也用了实际的饮用水（水龙头水）样品。

溶剂标品用二氯甲烷（DCM）制备，并像水样的处理方式一样加标。标样的终浓度分别为 0.1，1，10 和 100 µg/L（ppb）。每个溶剂标样中都添加了 20 µg/L 氘代 NDMA（d_6-NDMA）作为内标。除此之外，还用到了一个程序空白（未添加 DCM）（表 3）。

为验证溶剂标品的实验结果，我们从当地的一家研究机构（ICRA, Catalan Institute for Water Research）获取了三份饮用水样品（M1，M5 和 M10），每个样品平行两份。在样品前处理之前进行加标，最终浓度分别为 0. 96，4.8 和 9.6 ng/L。未添加 NDMA 的饮用水样品（M0）被用作空白基质。按照 EPA 521 方法对每个水样都分别进行了 SPE 提取（EPA 521/522，Restek）处理，并浓缩至 1.0 mL。[3] 为进行回收率校正，在进行 SPE 处理前向每个水龙头水样中加入 24 ng/L d_6-NDMA 作为替代物。同样，为校正样品进样，我们用 d_{14}-N-亚硝基二正丙胺（d_{14}- N-nitrosodipropylamine，d_{14}-NDPA）作为内标，在每个样品和标准品的 1.0 mL 终提液中添加到 24 pg/µL 水平。

表 3. 样品制备：上面表格为用来测试线性、灵敏度、峰面积稳定性的溶剂标制备方法；下面表格为用来对比评价 NDMA 定量的溶剂标和水样浓度

校准标准	NDMA 标曲工作液（μg/L）	体积	NDMA 浓度（μg/L）	d_6-NDMA（5 ppm）添加量（最终体系 10 mL）	d_6-NDMA 最终浓度（μg/L）
Cal 6	5000	200 μL 定容至 10 mL（DCM）	100	40 μL	20
Cal 5	5000	20 μL 定容至 10 mL（DCM）	10	40 μL	20
Cal 4	5	2000 μL 定容至 10 mL（DCM）	1	40 μL	20
Cal 3	5	200 μL 定容至 10 mL（DCM）	0.1	40 μL	20
Cal 1	0	空白添加	0	40 μL	20

	NDMA 浓度（μg/L）	d_6-NDMA（μg/L）	d_{14}-NDPA（μg/L）
溶剂标品	0.0	0.0	24.0
Cal 0	0.0	0.0	24.0
Cal 0.1	0.1	0.1	24.0
Cal 1	1	1.1	24.0
Cal 2	1.9	2.2	24.0
Cal 10	9.6	10.9	24.0
Cal 20	19.3	21.7	24.0
Cal 50	48.1	54.3	24.0
水样	NDMA 加标量（ng/L）	d_6-NDMA（μg/L）	d_{14}-NDPA（μg/L）
M0A（空白水样）	0.0	24.0	24.0
M0B（空白水样）	0.0	24.0	24.0
M1A	1.0	24.0	24.0
M1B	1.0	24.0	24.0
M5A	4.8	24.0	24.0
M5B	4.8	24.0	24.0
M10A	9.6	24.0	24.0
M10B	9.6	24.0	24.0

数据处理

数据采集和处理使用 Thermo Scientific™ TraceFinder™ 软件进行。该软件设置非常简单，并能支持完整的定量和定性分析工作流程，包括峰积分、化合物浓度和回收率计算以及轻松的数据审阅和报告等功能。此外，对于定性分析来说，TraceFinder 还能够自动进行去卷积，生成纯质谱图，并进行化合物定性（通过检索定制的、兼容 NIST 的高分辨质量谱库，和商用谱库等进行）。

结果与讨论

本分析研究的目标是评估 GC Orbitrap 技术在饮用水中低浓度 NDMA 检测方面以及样品中其他污染物的宽范围非靶向筛查、检测和定性方面的。

我们首先使用配制的标样溶液来评估 NDMA 色谱分离、灵敏度、线性范围和峰面积重现性。 然后再使用在 SPE 提取和浓缩前添加了低浓度 NDMA 的饮用水样品来验证方法的可靠性。 除了 NDMA 定量分析， 我们还使用了非靶向分析的方法来筛查水样中其它的化学污染物。最后基于 NIST 谱库匹配结果、碎片离子分析和精确质量数等信息来对化合物定性[4]。

色谱和分辨率

使用表 1 所述 GC 条件，能够实现快速的 GC 分析（总 GC 运行时间 11 min）和良好的色谱分离，有利于进行高通量分析。图 1 给出的是 NDMA 在最低校准浓度溶剂标样（0.1 μg/L）和最低加标浓度饮用水样品（0. 96 ng/L）的色谱图。

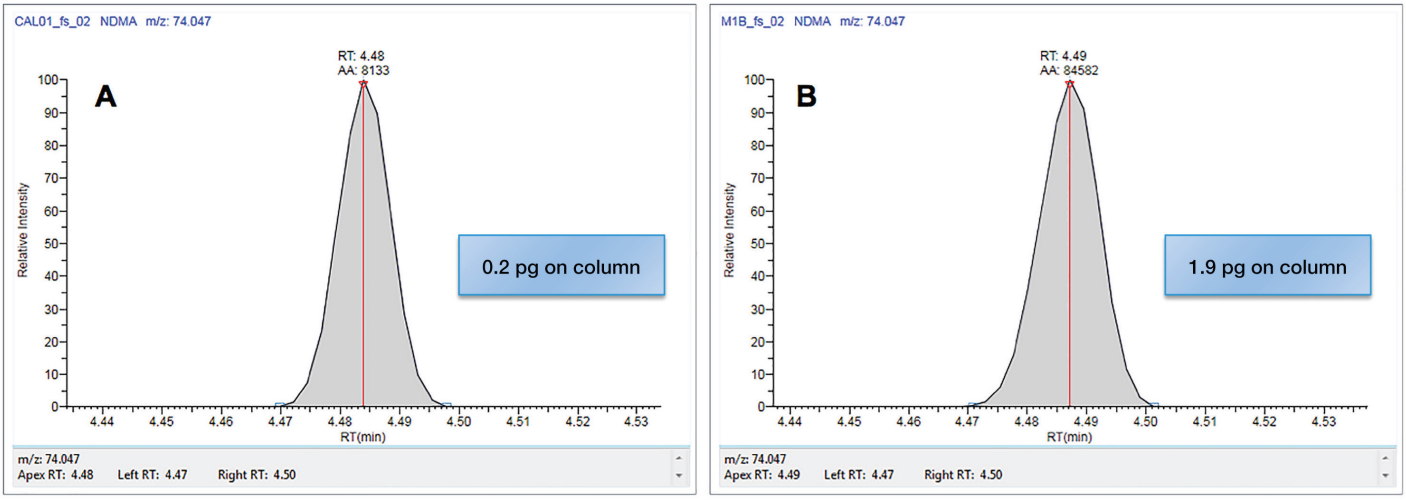


图 1. 0.1 µg/L 的校准溶剂标样（A）和 1.0 ng/L 的加标饮用水样品（B）中的 NDMA 分子离子 *m/z* 74.04747 的提取离子色谱图（XIC，EI 为 70 eV）。绝对柱上浓度以柱上 pg NDMA 表示

NDMA 分子离子（*m/z* 74.04747）的准确检测会受到背景离子的干扰。在所有实验中，仪器的分辨率都设为 60,000（*m/z* 200，FWHM），相当于 *m/z* 74 处的质量分辨率 >100，足够在基质背景中实现 NDMA 目标离子的选择性检测（图 2）。

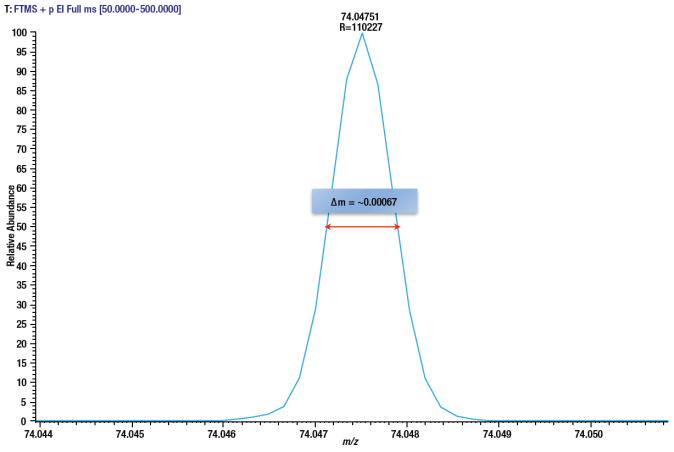
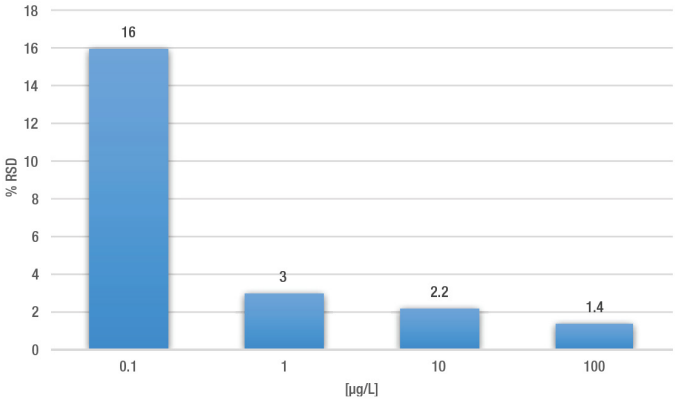


图 2. 饮用水样品中的 NDMA，在 *m/z* 74.04747 下分辨率 R> 110，000（FWHM）。数据在全扫模式下采集，电离模式为 EI 电离（70 eV）

仪器检测限（IDL）和峰面积重现性

系统灵敏度主要体现在 NDMA 检测的最低定量限或仪器检测限（IDL）。计算依据是最低浓度校准标品 0.1 µg/L 的峰面积 %RSD（n=9），并考虑 Student’s-t 检验在相应自由度（ 99% 置信区间）的临界值。 该实验结果显示，Exactive GC 系统计算得到的 IDL 为 0.09 µg/L，与校准标品的最低可检测浓度相近。

要保证定量分析结果可靠，那么仪器响应的稳定性至关重要，评估 NDMA 定量离子（*m/z* 74.04747）的峰面积重现性则可以了解仪器的稳定性。为计算峰面积重现性， 对每个溶剂标准品进行至少五次进样，其中 1.0 µg/L 标样的进样次数为九次，并对数据进行分析。绝对峰面积的重现性可以根据每个浓度水平的 %RSD 进行评估，结果参见图 3。



*** 1.0 µg/L 浓度水平样品的 n=9， 其它样品 n=5。**

图 3. 各浓度水平 NDMA 标样的绝对峰面积重现性（ 0.1，10 和 100 µg/L 样品 n=5，1.0 µg/L 样品 n=9）。 每个水平的平均 %RSD 数据标示在每个数据柱上方。

两批样品的分析结果显示了极佳的峰面积重现性。对于使用溶剂标品的实验来说，d_6-NDMA 内标的峰面积 %RSD < 4.5%（n=35），d_{14}-NDPA 峰面积 %RSD~5%（n=14, 包括水样）（图 4）。

线性范围

采用 7 个点 浓度范围内进行线性范围考察，包括溶剂空白样品以及 0.1，1.0，2.0，10，20 和 50 µg/L（ppb）标样，每个浓度点进样两次。对校准线性区间使用 1/x 加权线性拟合进行评估，可见相关系数（R2）为 >0.999（图 6）。此外，纯品 NDMA 相对响应因子（RRF）的 %RSD <9%，而其相应的 d_6-NDMA 氘代物的 %RSD RF 为 6%（图 6）。

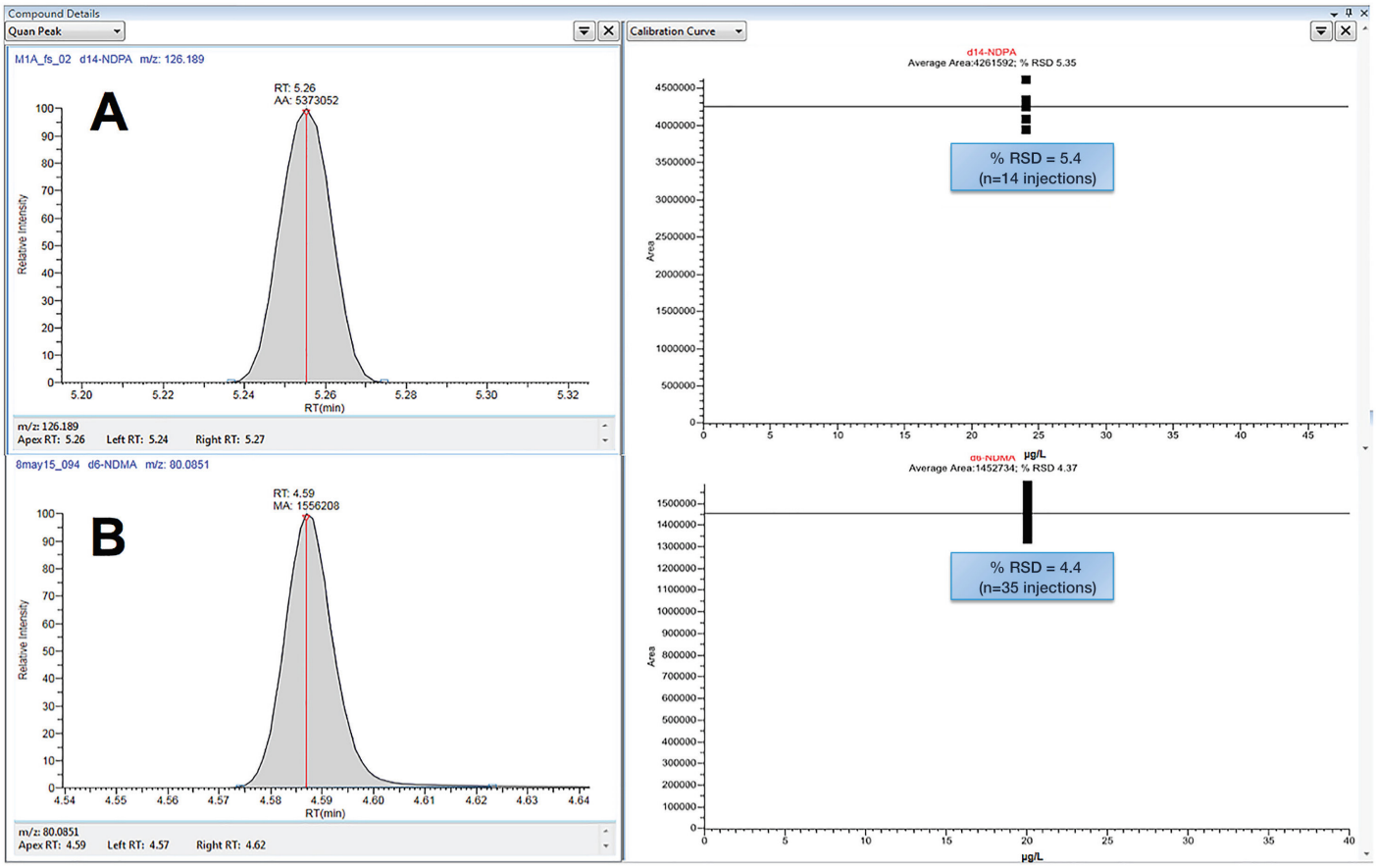


图 4. 两种实验条件下的两批标样的峰面积重现性（以 % RSD 评估）结果：d_{14}-NDPA 内标的 n=14 次进样（A），和 d_6-NDMA 内标的 n= 35 次进样（B）

质量准确度

众所周知，分析方法的选择性会随着质量准确度的提高而提高， 因此对于复杂基质样品分析和目标化合物的可靠表征和确证来说，获取始终稳定的亚 ppm 级别的质量准确度具有显著优势。

在本研究中，NDMA *m/z* 74.04747 的质量准确度 始终保持在误差 <1 ppm，无论浓度高低，也无论是在溶剂标品还是提取过的饮用水 样品中（图 5 和表 4）。

表 4. 饮用水样品的定量分析结果

样品	d_6-NDMA 回收率（%）	NDMA 计算结果（ng/L）	质量偏差（ppm）
M1A	107	1.1	0.7
M1B	105	0.96	0.01
M5A	111	4.7	0.01
M5B	104	4.3	0.01
M10A	88	8.4	0.2
M10B	99	8.1	0.1

饮用水中 NDMA 的定量分析

饮用水样品中 NDMA 的分析结果证明了方法的准确性（表 4）。对 d_6-NDMA 氘代物的回收率在整个样品序列中都进行了计算，回收率数据与 EPA 方法 521 高度吻合，该方法要求回收率范围在 70–130% 内（表 4）。总的来说，这些结果证明 Exactive GC 质谱仪能够提供出色的结果，非常适合实验室常规使用。

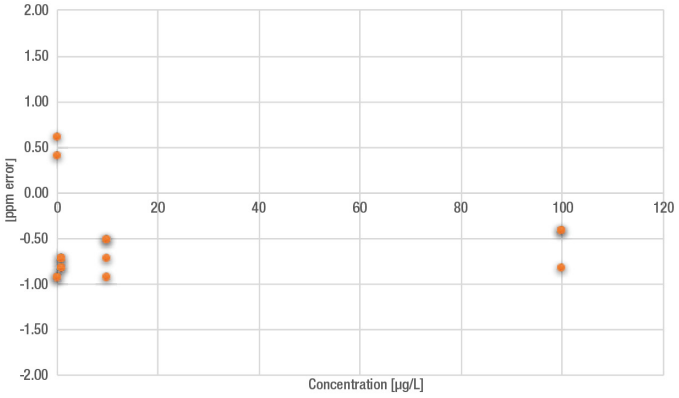


图 5. NDMA 定量离子 *m/z* 74.04747 的质量准确度测定结果。图中显示了 NDMA 浓度水平（µg/L，X-轴）以及相应的质量偏差（ppm Y-轴）。每个点都代表一次独立进样

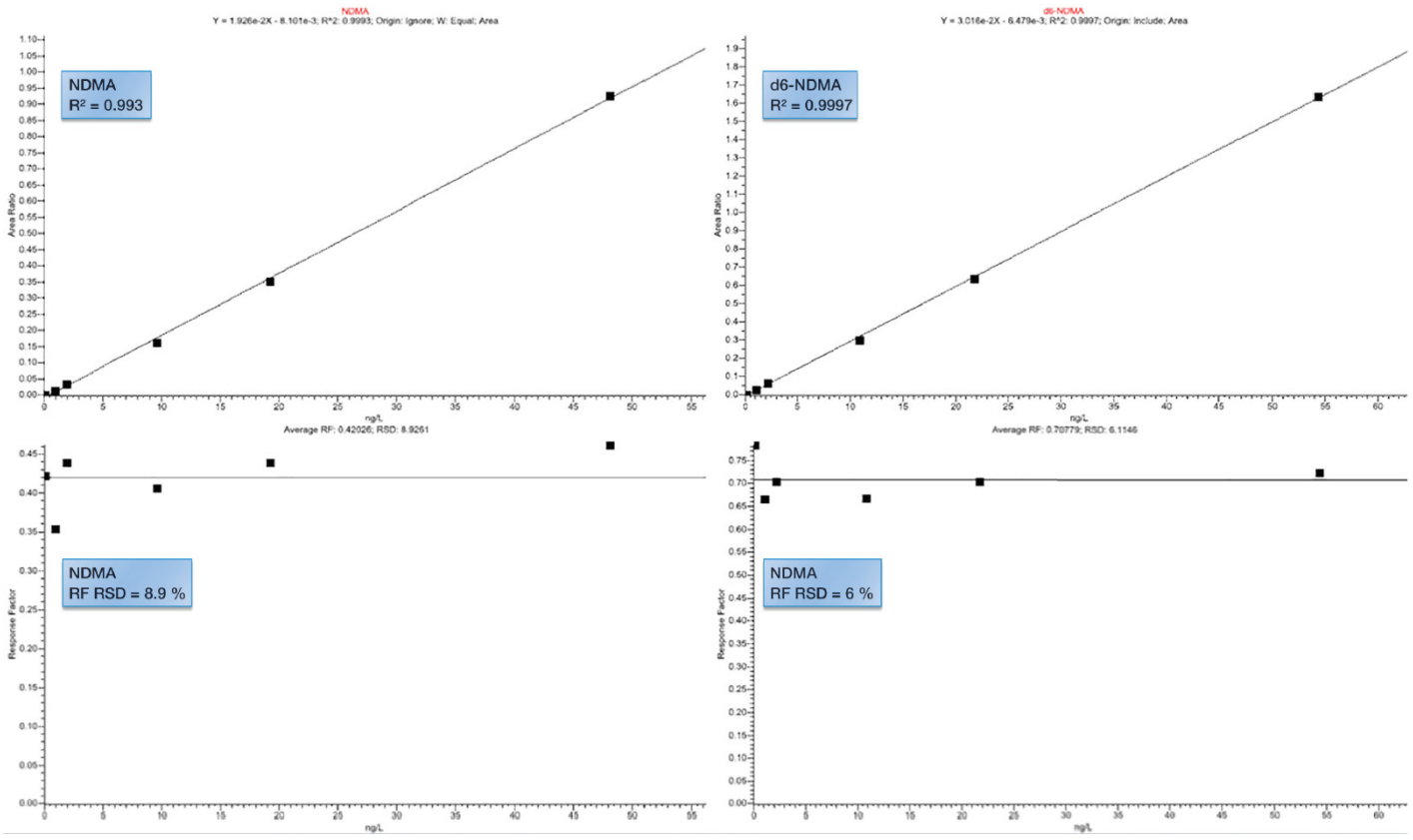


图 6. NDMA（左）和 d_6-NDMA（右）内标（经 d_{14}-NDPA 校准）在 7 点线性范围（0.1-50 µg/L）内的工作曲线，由图可见 NDMA 的 %RSD RF <9%，d_6-NDMA 替代物则为 6%

饮用水样品中其它污染物的非靶向筛查

Exactive GC 技术的一个显著优势在于它的高分辨全扫描采集模式使得分析人员可以通过对定量实验的原始数据进行进一步分析，从而在实验数据取得之后还能够筛查样品中是否还有其它可能有害的化学物质。在本研究中，我们通过使用 TraceFinder 对饮用水样品的原始数据按照非靶向筛查工作流程进行处理来做演示。该工作流程会自动进行化合物去卷积并得到纯的质谱图，然后再进行谱库检索来进行化合物的鉴定。 对于该工作流程的详细描述参见参考文献[4]。

结果显示，饮用水 样品中还包含 220 种并不存在于 DCM 溶剂空白中的化合物。这些化合物的鉴定使用 NIST 谱库（SI 阈值为 800）和一个高分辨过滤分数（HRF，阈值为 80）进行。HRF 使用精确质量数信息来解释 NIST（或类似）谱库匹配得到的碎片离子。4 饮用水样品中检测到的绝大部分污染物都是卤代有机化合物、药物（如：克林霉素、非氨酯等）、单帖烯类（D- 苧烯）和邻苯二甲酸盐等。图 7 给出了一些鉴定出的可信度很高的部分化合物，其中氯碘甲烷曾有文献报道为消毒剂副产物。[4]此外，四氯乙烯是一种广泛使用的、在私人或公共饮用水中频繁检出的干洗剂，已知对人类健康有害。[5]这两种化合物的谱库匹配结果均极佳（SI >890），总分 > 95% 且分子离子的质量准确度 < 0.5 ppm。

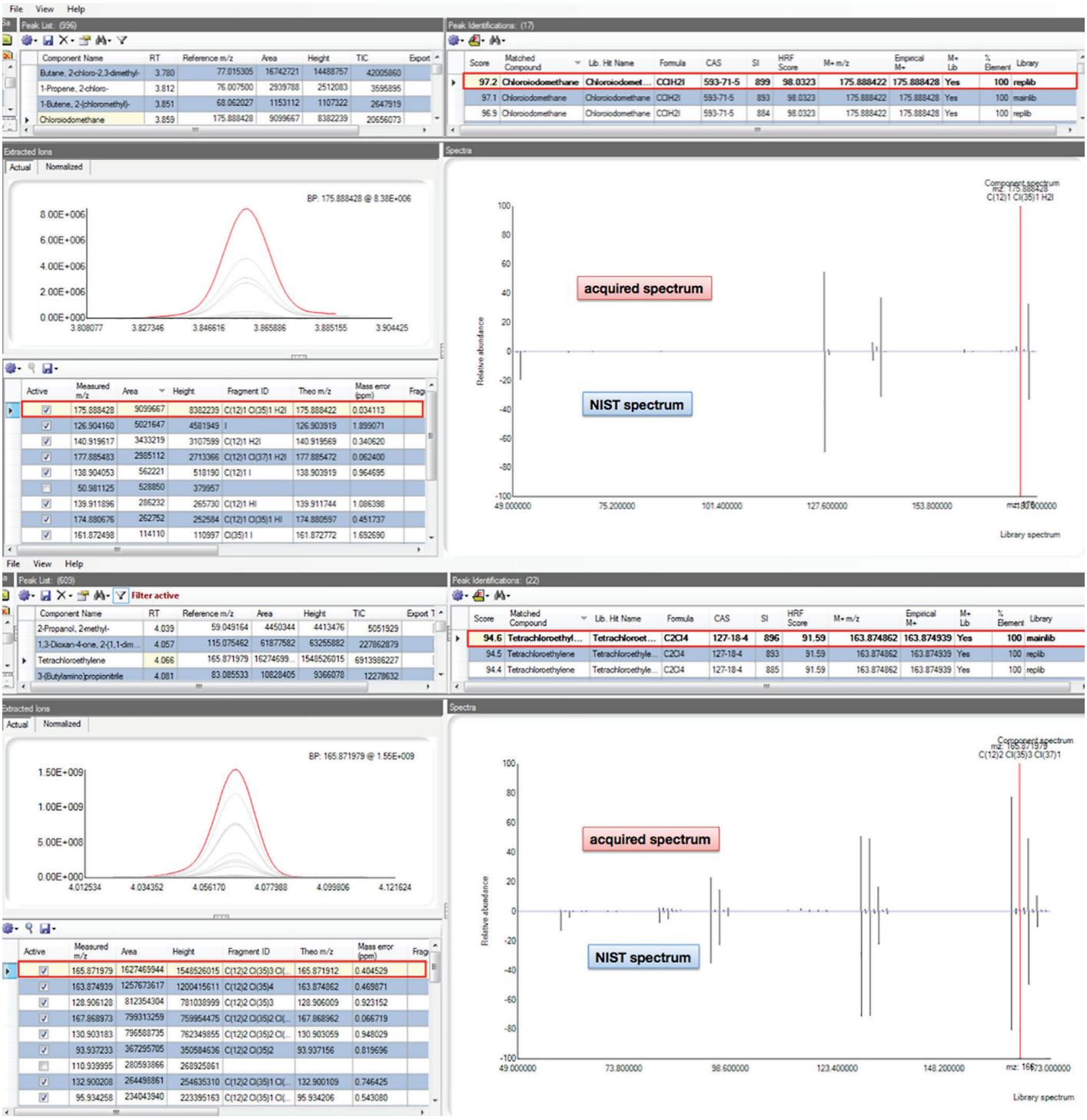


图 7. 饮用水样品中检出的化学污染物实例。图中显示 TraceFinder 去卷积浏览器中氯碘甲烷（a）和全氯乙烯（b）以及它们相应的去卷积之后的质谱图、鉴定结果可靠度总分、NIST 谱库匹配结果（SI）和每个被测离子的精确质量数

结论

应用 Exactive GC，在全扫模式 和 60,000 分辨率(FWHM) 的条件下能够在 0.1 µg/L 最低校准浓度标样中检出 NDMA，假设回收率为 100%，该结果则意味着 NDMA 的检测限（LOD）为 0.1 ng/L。此外，本方法在饮用水样品中的 NDMA 回收率极高，可以轻松在 1.0 ng/L 浓度水平实现该化合物的检测和准确定量。

全扫采集模式还使得对饮用水样品中的其它有害污染物的检测和鉴定成为可能。检测到的其它污染物主要是卤代有机化合物，这些化合物的出现可能主要跟一些加氯消毒法或氯胺消毒处理有关。对鉴定化合物的进一步确证需要借助标准品进行。

除了极高的灵敏度，在 0.1–50 µg/L 浓度区间内对 NDMA（R^2 >0.999 且 RSD RF <9%）以及其相应的 d_6-NDMA 氘代物（R2 >0.999 且 RSD RF <6 %）都得到了良好的线性。此外，在不同的浓度水平和所有被分析样品中，质量偏差始终较低（sub ppm）。

总的来说，实验结果证明 Exactive GC 系统在 NDMA 痕量分析方面具有极佳的定量和定性表现。

References

1. Mitch, W. A., J. O. Sharp, et al. (2003). "N-nitrosodimethylamine (NDMA) as a drinking water contaminant: A review." Environmental Engineering Science 20 (5): 389-404.
2. Sedlak, D. L., R. A. Deeb, et al. (2005). "Sources and fate of nitrosodimethylamine and its precursors in municipal wastewater treatment plants." Water Environment Research 77(1): 32-39.
3. U.S. Environmental Protection Agency, Method 521, Determination of Nitrosamines in Drinking Water by Solid Phase Extraction and Capillary Column Gas Chromatography with Large Volume Injection and Chemical Ionization Tandem Mass Spectrometry (MS/MS), 2004.
4. Discovery of Emerging Disinfection By-Products in Water Using Gas Chromatography Coupled with Orbitrap-based Mass Spectrometry, Thermo Fisher Scientific Application Note 10490, 2015. [Online]: https://tools.thermofisher.com/content/sfs/brochures/AN-10490-GCMS-Disinfection-Byproducts-Water-AN10490-EN.pdf.
5. USEPA. Basic Information about Tetrachloroethylene in Drinking Water. http://water.epa.gov/drink/contaminants/basicinformation/tetrachloroethylene.cfm, 2014.
6. DHS. (2002). California Department of Health Services; NDMA in California Drinking Water; March 15, http://www.waterboards.ca.gov/drinking_water/certlic/drinkingwater/documents/notificationlevels/notificationlevels.pdf.
7. Health Canada (2011). Guidelines for Canadian Drinking Water Quality: Guideline Technical Document -N-Nitrosodimethylamine. Water, Air and Climate Change Bureau, Healthy Environments and Consumer Safety Branch, Health Canada, Ottawa, Ontario. (Catalogue No H128-1/11-662E). http://healthycanadians.gc.ca/publications/healthy-living-vie-saine/water-nitrosodimethylamine-eau/alt/waternitrosodimethylamine-eau-eng.pdf
8. Krauss, M.; Hollender, J. (2008). Analysis of nitrosamines in wastewater: Exploring the trace level quantification capabilities of a hybrid linear ion trap/orbitrap mass spectrometer. Anal. Chem. 2008,80, 834-842.

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）

thermo scientific
A Thermo Fisher Scientific Brand