

固相萃取-超高效液相色谱/三重四极杆质谱法同时测定地表水中 8 种亚硝胺类化合物

张蓓蓓,赵永刚,孙慧婧,史震宇

(国家环境保护地表水环境有机污染物监测分析重点实验室,江苏省环境监测中心,江苏 南京 210019)

摘要:建立了固相萃取(SPE)-超高效液相色谱/三重四极杆串联质谱(UPLC-MS/MS)同时测定地表水中 8 种亚硝胺类化合物的方法。水样中目标物经椰壳活性炭固相萃取小柱吸附富集,小柱经氮气吹干后采用二氯甲烷洗脱。待测样品采用 Atlantis T₃ 柱,以水-甲醇作为流动相进行梯度洗脱,大气压力化学电离源(APCI)正离子模式多反应监测方式(MRM)进行检测,内标法定量分析。8 种目标物在相关线性范围内线性良好($r \geq 0.9950$),地表水加标回收率为 55.4%~90.4%,相对标准偏差为 3.1%~14.3%,方法检出限为 1.1~1.8 ng/L。本方法准确度和灵敏度高,适用于快速测定地表水中 8 种亚硝胺类化合物含量。

关键词:亚硝胺类化合物;固相萃取;超高效液相色谱/三重四极杆质谱;地表水

中图分类号:X832;O657.63

文献标志码:B

文章编号:1674-6732(2020)05-0082-05

Simultaneous Determination of Eight Nitrosamines in Surface Water by Solid Phase Extraction and Ultra-performance Liquid Chromatography Tandem Triple Quadrupole Mass Spectrometry

ZHANG Bei-bei, ZHAO Yong-gang, SUN Hui-jing, SHI Zhen-yu

(State Environmental Protection Key Laboratory of Monitoring and Analysis for Organic Pollutants in Surface Water, Jiangsu Provincial Environmental Monitoring Center, Nanjing, Jiangsu 210019, China)

Abstract: A method for analysis of eight nitrosamines in surface water was developed using solid phase extraction(SPE) and ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry(UPLC-MS/MS). The samples were extracted and cleaned with coconut charcoal solid phase extraction cartridges. After drying by nitrogen, the cartridges were eluted with dichloromethane. The Atlantis T₃ column was used for the liquid chromatography separation, with a linear gradient elution program of methanol-water as the mobile phase. A triple quadrupole mass spectrometer equipped with an atmospheric-pressure chemical ionization was operated in the positive ion with multiple reaction monitoring mode(MRM), and internal standard method was used for quantitation. There were good linear relations($r \geq 0.9950$) of all the 8 nitrosamines. The recoveries ranged from 55.4% to 90.4%, with the relative standard deviations of 3.1%~14.3%. The detection limits were between 1.1~1.8 ng/L. The method is sensitive and accurate, and is suitable for simultaneous determination of eight nitrosamines residues in surface water.

Key words: Nitrosamines; SPE; UPLC-MS/MS; Surface water

N-亚硝胺类化合物(Nitrosamines, NAmS)作为新型的含氮消毒副产物,是一类潜在的人类致癌物,主要包括 N-亚硝基二甲胺(NDMA)、N-亚硝基甲乙胺(NMEA)、N-亚硝基二乙胺(NDEA)、N-亚硝基二正丙胺(NDPA)、N-亚硝基二正丁

胺(NDBA)、N-亚硝基吗琳(NMOR)、N-亚硝基吡咯烷(NPYR)、N-亚硝基哌啶(NPIP)和 N-亚硝基二苯胺(NDPhA)等 9 种。其中 NDMA 是 NAmS 的典型代表,它是发现最早、检出率最高、研究最为广泛的一种亚硝胺类消毒副产物^[1]。自

收稿日期:2020-04-17;修订日期:2020-05-21

基金项目:江苏省环境监测基金资助项目(1909)

作者简介:张蓓蓓(1982—),女,高级工程师,硕士,研究方向为环境有机污染物监测分析。

1956 年 Magee^[2]报道了亚硝胺类物质具有致癌作用后,人们对其毒性及致癌作用进行了广泛的研究。动物实验表明,100 种亚硝胺类化合物中 75% 以上能诱发癌症^[3]。亚硝胺具有非常强的基因毒性,诱导肿瘤产生的部位主要集中在肝脏和食管,也可能引发膀胱、肺和脑部产生肿瘤^[4-5]。

亚硝胺类物质存在于大气、土壤、水、化工产品、烟草、食品、药物和农药等环境介质中^[6],且分布广泛。其来源主要有:工业生产过程中使用或产生的亚硝胺类物质、饮用水消毒副产物、食品中广泛存在的亚硝基类物质及其前体物的转化^[7]。2010 年,Wang 等^[8]检测了中国 12 个水厂的原水及出厂水中的 9 种亚硝胺类饮用水消毒副产物(DBPs)的浓度水平,检测出 6 种亚硝胺类物质,分别为 NDMA, NDEA, NDBA, NMOR, NDPhA 和 NMEA,其中 NDMA, NDEA, NDBA 和 NMOR 是最常检出的亚硝胺类物质。2015 年,Ting 等^[9]对我国江苏省 8 个城市 9 个饮用水厂中水源水、管网水及饮用水出水中的 NAmS 进行了检测,饮用水中 9 种 NAmS 的总质量浓度最高达 765 ng/L,均值为 42 ng/L,其中 NDMA 的浓度与华南地区报道的数据相近,在中国处于较高水平。董蕾等^[10]研究了 2015—2016 年我国东北、东南、西南的 6 个地区性代表城市的原水、出厂水和管网水中含氮消毒副产物,结果表明,6 个城市饮用水中 NDMA、NDPA 和 NDEA 质量浓度 > 10 ng/L。

为了保障饮用水安全,确保人体健康,部分国家和地区对饮用水中亚硝胺的浓度水平做出了限制。2002 年,美国加利福尼亚州的健康服务部制定的 NDMA、NDEA 和 NDPA 标准限值为 10 ng/L。加拿大卫生部规定饮用水中 NDMA 的质量浓度不得 > 40 ng/L,安大略省环境部限定该省饮用水中 NDMA 的质量浓度应 < 9 ng/L。2004 年,荷兰限定饮用水中 MDMA 的质量浓度不得 > 12 ng/L。2007 年,德国卫生部给出饮用水中 NMOR 和 NDMA 的限制值为 10 ng/L。世界卫生组织(WHO)于 2008 年规定 NDMA 的限制值为 100 ng/L。2009 年,美国马萨诸塞州和澳大利亚建议饮用水中 NDMA 的限制值分别为 10 和 100 ng/L。我国《生活饮用水卫生标准》(GB 5749—2006)及相关环境质量标准中均未将亚硝胺类纳入管控目标。虽然我国已有《水质 亚硝胺类化合物的测定 气相色谱法》(HJ 809—2016)标准方法,该方法仅测定

水中 4 种亚硝胺类且检出限仅在 $\mu\text{g/L}$ 水平。因此,进一步优化这类化合物的分析方法,提高方法的灵敏度和准确性,才能够满足各类环境监管的需求。

相较于气相色谱和气相色谱-质谱法^[11-12],近年来研究人员逐步采用液相色谱-串联质谱法(LC-MS/MS)分析亚硝胺类化合物^[13-14],LC-MS/MS 技术对高沸点、热不稳定、亲水性亚硝胺类化合物的测定具有优势。9 种常见的亚硝胺类化合物中,NDPhA 由于分子量大、水溶性较差及热不稳定性等化学性质,在水样前处理过程及仪器分析过程中,与其他 8 种化合物均显示出较大差异。基于亚硝胺类在我国水体中的污染状况、国内外环境监管情况及化学性质分类,最终选取了 NDMA、NDEA、NMEA、NDPA、NDBA、NPYR、NMOR、NPIP 这 8 种目标物,通过固相萃取(SPE)对地表水样进行萃取富集,采用液相色谱-大气压化学电离源-三重四极杆质谱法(UPLC-APCI-MS/MS)实现同时定性定量分析。

1 材料和方法

1.1 实验试剂

NDMA、NDEA、NMEA、NDPA、NDBA、NPYR、NMOR、NPIP 共 8 种标样(5 000 mg/L,美国 AccuStandard 公司);N-亚硝基二甲胺-D₆(NDMA-D₆)、N-亚硝基二丙基胺-D₁₄(NDPA-D₁₄)共 2 种内标物(100 mg/L,美国 AccuStandard 公司);甲醇、二氯甲烷(色谱纯,德国 Merck 公司);超纯水由 Millipore 纯水机每日制备。

1.2 样品制备

制备仪器:E 9000 全自动固相萃取仪(日本 GL 公司);椰壳活性炭固相萃取柱(2 g/6 mL,德国 CNW 公司);TurboVapII 型全自动定量浓缩仪(瑞典 Biotage 公司);0.22 μm 聚偏二氟乙烯针头过滤器(德国 Merck 公司)。

制备过程:量取 1 000 mL 水样置于干净的玻璃样品瓶中,用椰壳活性炭固相萃取柱对水样进行富集。小柱依次用 10 mL 二氯甲烷,10 mL 甲醇以及 10 mL 超纯水活化。之后,水样以 5 mL/min 的流速进行上样。水样全部通过后,用 10 mL 超纯水淋洗小柱。小柱在氮气流和真空泵作用下进行除水,最后用 15 mL 二氯甲烷洗脱收集。洗脱液加入 0.5 mL 超纯水后,经氮气吹至 0.5 mL 左右,用超

纯水定容至 1.0 mL, 加入 10 μ L 5.0 mg/L 的内标使用液。将上述样品经 0.22 μ m 针式滤头过滤, 转移至 2 mL 样品瓶中, 在 4 $^{\circ}$ C 下保存, 并在 7 d 内进行仪器分析。

1.3 分析仪器与条件

分析仪器: Aquity/AB SCIEX 6500 超高效液相色谱/串联质谱仪(美国 Waters 公司); Analyst 1.6 工作站; Atlantis T₃ 色谱柱(100 mm \times 2.1 mm \times 1.7 μ m, 美国 Waters 公司)。

分析条件: 流动相为超纯水(A)和甲醇(B), 采用梯度洗脱模式, 0~1 min, B 相体积保持 5%; 1~3 min, B 相体积由 5% 线性上升为 30%; 3~8 min, B 相体积由 30% 线性上升为 100%, 并保持 1 min; 之后 B 相体积迅速降为 5% 并保持 1 min。流量 0.45 mL/min, 进样量 10 μ L, 色谱柱温为 30 $^{\circ}$ C。内标法定量。

8 种目标物采用大气压力化学电离源(APCI)分析, 正离子扫描方式, 多反应监测。质谱参数: 气帘气压力为 2.07×10^5 Pa, 碰撞气压力为 Medium, 喷雾气压力为 3.45×10^5 Pa, 电晕针电流 1.0 μ A, 离子源加热气体温度为 250 $^{\circ}$ C, 离子化电压为 5 500 V。目标物均采用多离子反应监测方式(MRM), 具体条件见表 1。

表 1 目标物的多反应监测参数^①

化合物名称	母离子(m/z)	子离子(m/z)	毛细管电压/V	碰撞能量/V	内标物
NDMA	75.1	43.1*/58.0	40	19/16	NDMAD ₆
NMOR	116.9	86.1*/45.0	40	18/21	
NMEA	89.1	61.2*/43.2	120	16/16	
NPYR	101.0	55.0*/58.8	40	21/24	
NDBA	159.0	103.0*/57.2	40	16/22	NDPAD ₁₄
NDEA	102.9	75.0*/46.9	40	16/23	
NPIP	114.9	69.1*/41.1	40	21/34	
NDPA	131.0	89.0*/43.3	40	16/27	
NDMAD ₆	81.1	46*	40	33	
NDPAD ₁₄	145.0	50*	40	16	

① * 为定量离子。

2 结果与讨论

2.1 色谱条件的选择

本实验为了获得最佳分离效果和较好的色谱峰形, 分别考察了甲醇-水溶液、甲醇-0.1% 甲酸水溶液、甲醇-0.005 mol/L 醋酸铵水溶液作为流动相对目标物分离的影响。结果表明, 水相中添

加剂的加入, 对目标物的峰形没有影响, 醋酸铵的加入会使部分目标物的响应降低。另外, 在水相 pH 值为 2.00~8.00 的甲酸铵水溶液和甲醇流动相中进行研究发现, NMEA 出现了色谱双峰的现象, 无论 pH 值如何调整, 双峰均未得到改善(图 1)。经研究和查阅文献发现, 8 种目标物中仅 NMEA 为非对称性结构, 该目标物存在手性对映异构体, 因此呈现了色谱双峰的现象^[15]。

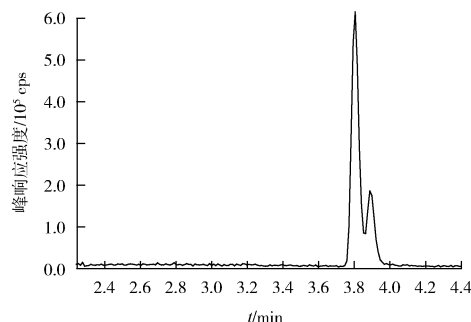


图 1 NMEA 色谱双峰

考察了不同色谱柱对亚硝胺类化合物的保留行为。相比较于 C₁₈ 柱, T₃ 柱对于强极性化合物如 NDMA 的色谱保留更强, 更加有利于实际样品中基质和目标物的分离。

2.2 质谱条件的选择

对质量浓度为 1.0 mg/L 的 8 种目标物单个标准溶液在电喷雾离子源(ESI) +/- 及大气压化学电离源(APCI) +/- 的 4 种方式下进行一级质谱母离子扫描。结果表明, 在 APCI 正离子模式下 8 种目标物有更好的响应, 基峰均为 [M + H]⁺。优化母离子锥孔电压之后, 选定 [M + H]⁺ 为母离子, 进行二级质谱扫描, 寻找子离子碎片, 确定定量离子和定性离子及其最佳碰撞能量, 以达到最佳的检测灵敏度。

同时考察了不同离子源加热温度(250, 350, 550 $^{\circ}$ C)和不同电晕针电流(1.0, 3.0, 5.0 μ A)对各目标物色谱响应的影响, 结果表明, 离子源加热温度为 250 $^{\circ}$ C 时各目标物的响应最高, 随着温度的上升, 目标物响应下降明显。电晕针电流在 1.0, 3.0, 5.0 μ A 时各目标物的响应变化不明显, 故最终选取 1.0 μ A 电流、250 $^{\circ}$ C 离子源加热温度作为方法条件。

2.3 固相萃取条件选择

Planas 等^[16]对比了椰壳活性炭和琥珀活性炭

572 (Ambersorb 572) 对目标化合物的富集效果。实验结果表明,采用椰壳活性炭萃取,绝大多数亚硝胺类目标化合物的回收率(73% ~ 91%)均较高。Ambersorb 572 的萃取效果低于椰壳活性炭,尤其针对 NDMA,回收率仅为 43%,是椰壳活性炭回收率(88%)的一半。参照文献[16],本实验采用椰壳活性炭固相萃取小柱进行富集。空白水样中各目标物的加标质量浓度为 50 ng/L,平均回收率见图 2。由图 2 可见,采用椰壳活性炭固相萃取柱进行萃取,8 种目标物的回收率为 62.1% ~ 86.3%。

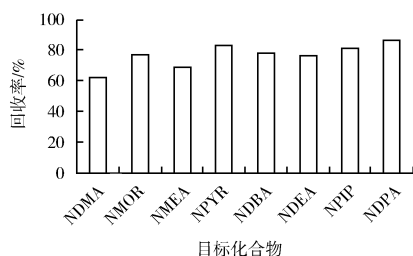


图 2 固相萃取法对 8 种目标物的空白水样加标回收率 (n=6)

2.4 标准曲线

用超纯水配制质量浓度依次为 5, 10, 20, 50, 80 和 100 μg/L 的混合标准溶液系列 1.0 mL, 置于进样瓶中, 各加入 10 μL 5 mg/L 的内标使用液, 混

匀。以待测物与内标物定量离子的峰面积比(Y)对待测物的质量浓度(X, μg/L)进行线性回归, 得到线性方程。8 种目标物在线性范围内呈良好的线性关系, 相关系数(r)均 > 0.995 0, 8 种目标物多反应监测色谱图见图 3。

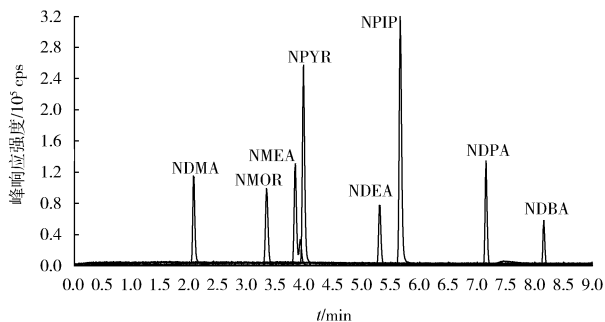


图 3 8 种目标物色谱图 (ρ = 100 μg/L)

2.5 检出限

根据《环境监测 分析方法标准制修订技术导则》(HJ 168—2010)方法检出限测定要求, 配制质量浓度为 5.0 ng/L 的空白水加标样 7 份, 按照样品分析过程进行测定, 计算 7 次平行测定的标准偏差(S), 以 3S 为检出限 (LOD), 4 倍检出限为定量下限 (LOQ), 结果见表 2。8 种目标物的检出限为 1.1 ~ 1.8 ng/L, 方法灵敏度高, 完全能够满足地表水中该类痕量污染物检测要求。

表 2 水中目标物的方法检出限及定量下限 (n=7)

目标物	加标浓度	测定值							平均值	S	LOD	LOQ
		1	2	3	4	5	6	7				
NDMA	5.0	2.72	3.53	4.22	2.89	3.46	3.39	2.55	3.25	0.57	1.8	7.2
NMOR	5.0	2.66	3.11	2.84	3.53	3.87	2.65	3.71	3.20	0.51	1.6	6.4
NMEA	5.0	3.32	2.95	4.07	3.56	2.88	3.15	3.19	3.30	0.41	1.3	5.1
NPYR	5.0	3.27	3.46	3.53	3.64	2.61	3.36	3.66	3.36	0.36	1.1	4.5
NDEA	5.0	3.36	3.23	4.08	3.45	2.63	3.55	4.29	3.51	0.55	1.7	6.9
NPIP	5.0	3.43	2.96	3.69	3.54	4.13	3.48	3.87	3.59	0.37	1.2	4.6
NDPA	5.0	3.67	3.05	3.50	3.39	4.17	3.39	4.22	3.63	0.43	1.4	5.4
NDBA	5.0	4.64	3.50	3.32	3.58	4.07	4.15	3.40	3.81	0.49	1.5	6.1

2.6 精密度及准确度

配制低 (10.0 ng/L)、中 (40.0 ng/L)、高 (80.0 ng/L) 3 个质量浓度水平的地表水加标样各 6 份, 按上述优化的实验条件, 进行准确度和精密度实验。选取的地表水样品在加标前经测定, 8 种目标

物均未检出。每个添加浓度测定 6 份样品, 计算加标回收率和相对标准偏差。结果表明, 8 种目标物的回收率为 55.4% ~ 90.4%, 测定结果的相对标准偏差为 3.1% ~ 14.3%。方法准确度和精密度均符合痕量分析的要求。

表 3 地表水中 8 种目标物的精密度和准确度 ($n=6$)

目标物	加标浓度/ ($\text{ng} \cdot \text{L}^{-1}$)	测定平均值/ ($\text{ng} \cdot \text{L}^{-1}$)	RSD/%	平均回收率 /%
NDMA	10	5.78	14.3	57.8
	40	28.2	10.2	70.5
	80	62.7	9.3	78.4
NMOR	10	5.54	10.6	55.4
	40	30.6	5.5	76.5
	80	57.3	8.9	71.6
NMEA	10	6.84	11.7	68.4
	40	31.4	10.2	78.5
	80	65.4	9.3	81.8
NPYR	10	6.22	8.9	62.2
	40	32.6	10.3	81.5
	80	70.1	5.5	87.6
NDEA	10	7.52	8.2	75.2
	40	30.4	8.8	76
	80	64.3	5.6	80.4
NPIP	10	7.76	10.4	77.6
	40	32.2	4.3	80.5
	80	66.7	4.5	83.4
NDPA	10	7.96	7.9	79.6
	40	31.6	11.2	79
	80	69.1	5	86.4
NDBA	10	7.02	6.6	70.2
	40	32.4	7.2	81
	80	72.3	3.1	90.4

2.7 实际地表水样品分析

用该方法对江苏省盐城市、泰州市和南通市 3 个地区的部分地表水开展了监测。结果表明,盐城市部分地表水中检出较高质量浓度的 NDMA, 2 个点位的地表水样品中检出浓度分别为 298 和 30.7 ng/L , 推测在盐城地表水测定点位上游存在相关的工业源排放。其他地区所有目标物均未检出。

3 结语

建立了固相萃取(SPE)-超高效液相色谱/三重四极杆串联质谱(UPLC-MS/MS)同时测定地表水中 8 种亚硝胺的方法,该方法可实现 8 种亚硝胺类化合物的同时测定,方法具备准确度高、灵敏度高的优势。经实际样品的测定表明,该方法具有较好的适用性,抗干扰能力强,完全能够满足地表水样品的快速监测要求,亦适用于各类环境质量标准的评价要求。

[参考文献]

- [1] TAGUCHI V, JENKINS S, WANG D T, et al. Determination of N-nitrosodimethylamine by isotope-dilution, high-resolution mass-spectrometry [J]. Canadian Journal of Applied Physiology-Revue Canadienne de Physiologie Appliquee, 1994, 39(3): 87-93.
- [2] MAGEE P N, BARNES J M. Induction of kidney tumors in the rat with dimethylnitrosamine [J]. Indian Journal of Pathology and Bacteriology, 1962, 64: 1931.
- [3] 赵玉环, 王玉文. 食管癌高发区水中挥发性 N-亚硝胺分布的初步探讨[J]. 环境科学, 1984, 5(1): 49-51.
- [4] 许后效. 环境中 N-亚硝基化合物[M]. 北京: 科学出版社, 1988.
- [5] SCHMIDT J D, MURPHY G P. Urinary lactic dehydrogenase activity in rats with dimethylnitrosamine induces renal tumors [J]. Investigative Urology, 1964(4): 57-63.
- [6] ROOK J J. Formation of haloforms during chlorination of nature water [J]. Water Treatment Examination, 1974, 23(1): 234-243.
- [7] 李志刚, 鲜启鸣. 水中亚硝胺类消毒副产物的污染现状、形成与控制[J]. 环境监测与预警, 2017, 9(6): 1-7.
- [8] WANG W F, HU J Y, YANG M. Determination of N-nitrosodimethylamine in drinking water by UPLC-MS/MS [J]. Journal of Environmental Sciences, 2010, 22(10): 1508-1512.
- [9] TING L, DIAN Y, QIMING X, et al. Variation of levels and distribution of N-nitrosamines in different seasons in drinking waters of East China [J]. Environment Science Pollution Research, 2015, 22: 11792-11800.
- [10] 董蕾, 王海燕, 蔡宏铨, 等. 我国六城市饮用水中含氮消毒副产物的现状调查 [J]. 环境与健康杂志, 2016, 33(3): 232-235.
- [11] 李婷, 鲜启鸣. GC-EI/MS 同时测定水中 9 种 N-亚硝胺 [J]. 中国测试, 2013, 39(4): 40-44.
- [12] 马强, 席海为, 王超, 等. 气相色谱-串联质谱法同时测定化妆品中的 10 种亚硝胺 [J]. 分析化学, 2011(8): 1201-1207.
- [13] 赵宇, 杨潘青, 孟君丽, 等. 超高效液相色谱/串联质谱同步测定水中多种亚硝胺类物质 [J]. 净水技术, 2019, 38(4): 21-27.
- [14] 唐雪惠, 吴艳芬, 李朝晖, 等. 超高效液相色谱质谱法测定饮用水中亚硝胺 [J]. 化学研究与应用, 2018, 30(7): 1190-1196.
- [15] 李深深, 饶志华, 张建勋, 等. LC-ESI MS 测定烟草中特有亚硝胺及其肩峰和分裂峰现象研究 [J]. 分析测试学报, 2005, 24(增刊): 181-183.
- [16] PLANAS C, PALACIOS O, VENTURA F, et al. Analysis of nitrosamines in water by automated SPE and isotope dilution GC/HRMS-Occurrence in the different steps of a drinking water treatment plant, and in chlorinated samples from a reservoir and a sewage treatment plant effluent [J]. Talanta, 2008, 76(4): 906-913.