

超高效液相色谱 – 三重四极杆质谱联用技术检测测定大气细颗粒物中 8 种 N- 亚硝胺

LCMSMS-096

摘要：本文建立了一种使用岛津超高效液相色谱和三重四极杆质谱联用技术同时测定大气细颗粒物中 8 种 N- 亚硝胺的方法。使用超高效液相色谱在 6.5 min 内实现快速分离，三重四极杆质谱进行定量分析，可快速、准确地测定大气颗粒物中的 N- 亚硝胺。本文对 8 种物质的线性关系、重复性、检出限和定量限及加标回收率进行了验证。结果表明，8 种 N- 亚硝胺类的线性良好，相关系数均大于 0.998，定量限为 0.16 $\mu\text{g/L}$ ~2.88 $\mu\text{g/L}$ 。仪器的重复性良好，不同浓度混合标准溶液连续进样 6 次，保留时间和峰面积相对标准规偏差分别在 0.5% 和 4% 以下。采样滤膜经过前处理后获得的空白基质加标，回收率在 70.1%~97.1% 之间。对未知样品进行检测，结果表明所分析滤膜中含有 34.5 mg/L NMor，6.3 mg/L NMEA，4.3 mg/L NDBA，其他 N- 亚硝胺类物质未检出。

关键词：N- 亚硝胺 大气颗粒物 超高效液相色谱 三重四极杆质谱

近年来多地发生的雾霾已经引起人们对于空气质量问题越来越多的关注。根据国内外有关研究表明空气动力学直径小于或等于 2.5 μm 的大气颗粒物（大气细粒子 PM_{2.5}）能够沉积在人体肺部器官，其中的有毒有害物质影响着人体健康。关于大气细粒子 PM_{2.5} 组分的研究也成为了热点，其中有机物的种类包括烷烃、烯烃、多环芳烃、有机酸、有机醇、有机酯及含氮杂环化合物等。含氮的杂环化合物中 N- 亚硝胺（N-nitrosamines）是有潜在致癌性的一类物质，主要包括亚硝基二甲胺（N-nitrosodimethylamine, NDMA），亚硝基乙胺（N-nitrosomethylethylamine, NMEA），亚硝基二乙胺（N-nitrosodiethylamine, NDEA），亚硝基二丙胺（N-nitrosodi-n-propylamine, NDPA），亚硝基吗啉（N-nitromorpholine, NMor），亚硝基吡咯烷（N-nitrosopyrrolidne, NPyr），亚硝基哌啶（N-nitrosopiperidine, NPip）和亚硝基酰胺（N-nitrosodi-n-butylamide, NDBA）等。检测大气细粒子 PM_{2.5} 中的 N- 亚硝胺也是目前环境分析的热点，最近的研究表明使用高效液相色谱串联质谱法（HPLC-MS/MS）可以监测饮用水中 N- 亚硝胺，但是 HPLC-MS/MS 技术检测大气细粒子 PM_{2.5} 中 N- 亚硝胺的方法鲜有报道。在本文中，通过优化色谱和质谱条件，实现直接快速测定大气细粒子 PM_{2.5} 中 8 种 N- 亚硝胺化合物包括 NDMA、NMEA、NDEA、NDPA、NMor、NPyr、NPip 和 NDBA。

实验部分

1.1 仪器

本实验使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 与三重四极杆质谱仪 LCMS-8040 联用系统，包括 LC-30AD \times 2(输液泵)，SIL-30AC (自动进样器)，CTO-30AC (柱温箱)，CBM-20A(系统控制器)，DGU-20A5(在线脱气机)，LCMS-8040 (三重四极杆液质联用仪) 和 LabSolutions Ver 5.50(工作站)。

1.2 分析条件

液相色谱条件

流动相：A 相：水；B 相：甲醇

流速：0.4 mL/min

色谱柱：Inertsil Sustain C18 (3.0 mm I.D. \times 100 mm L., 3 μm)

柱温：30 $^{\circ}\text{C}$

洗脱方式：梯度洗脱，初始浓度为 B 相 40%，时间程序见表 1

Time	Module	Command	Value
3.00	Pumps	Pump B Conc.	90
4.50	Pumps	Pump B Conc.	90
4.70	Pumps	Pump B Conc.	40
6.50	Controller	Stop	

进样量：15 μL

质谱条件

分析仪器：LCMS-8040

离子源接口电压：4.5 kV

碰撞气：氩气

脱溶剂管温度：250℃

检测器电压：1.96 kV

驻留时间及延迟时间：10 ms、3 ms

离子源：APCI(+)

雾化气及干燥气：氮气 3.0 L/min、10 L/min

源温：200℃

加热模块温度：400℃

扫描模式：多反应监测（MRM）

名称	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bias (V)	CE (V)	Q3 Pre Bias (V)
NMor	117.10	44.90*	-12.0	-17.0	-17.0
		56.00	-12.0	-18.0	-25.0
NDMA	75.10	41.00*	-15.0	-18.0	-16.0
		39.10	-15.0	-25.0	-14.0
NPir	101.10	55.00*	-22.0	-15.0	-27.0
		42.00	-22.0	-15.0	-27.0
NMEA	89.10	61.00*	-19.0	-13.0	-19.0
		42.90	-19.0	-15.0	-24.0
NDEA	103.10	74.80*	-22.0	-13.0	-30.0
		47.10	-21.0	-16.0	-18.0
NPip	115.10	69.00*	-12.0	-15.0	-27.0
		41.00	-28.0	-22.0	-18.0
NDPA	131.10	89.10*	-13.0	-13.0	-16.0
		43.00	-13.0	-15.0	-17.0
NDBA	159.10	103.10*	-17.0	-11.0	-11.0
		41.10	-17.0	-19.0	-17.0

* 表示定量离子

1.3 标准溶液的配制及样品前处理

标准溶液配制：将所购买的 2 mg/mL 亚硝酸混标用 40% 甲醇稀释，配制标准溶液浓度系列。

前处理步骤：将采样滤膜剪碎后，加入 20 mL 正己烷，超声提取 30 min，旋转蒸干后，用 1 mL 40% 甲醇重新溶解，过滤，待测。

结果讨论

2.1 标准样品一级质谱图和产物离子扫描质谱图

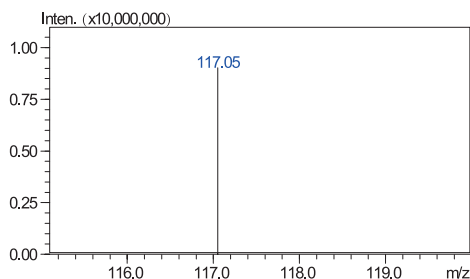


图1 NMor的一级质谱图

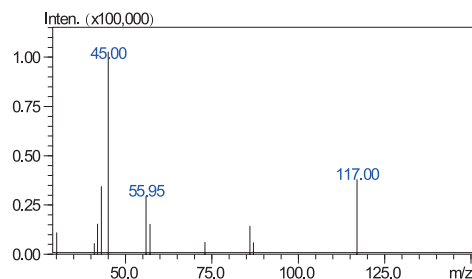


图2 产物离子扫描质谱图 (CE值-25V)

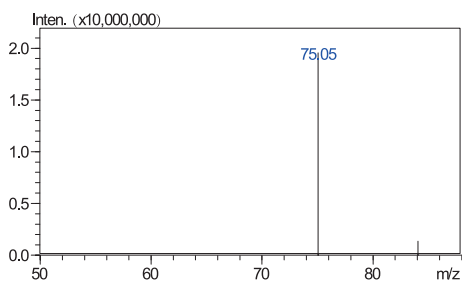


图3 NDMA的一级质谱图

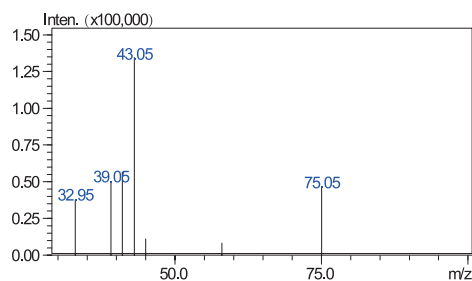


图4 产物离子扫描质谱图 (CE值-35V)

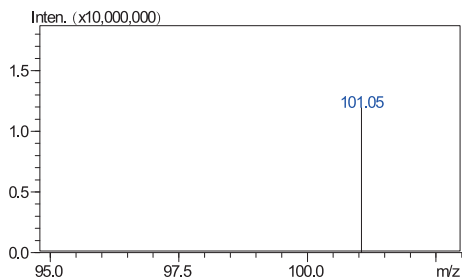


图5 NPir的一级质谱图

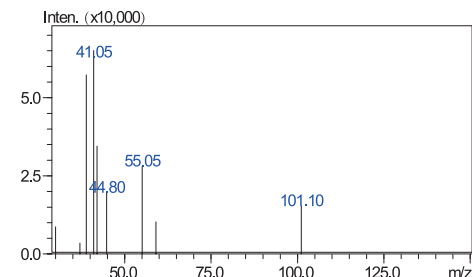


图6 产物离子扫描质谱图 (CE值-35V)

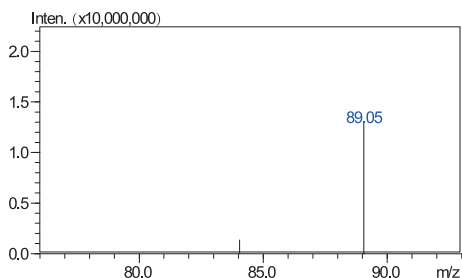


图7 NMEA的一级质谱图

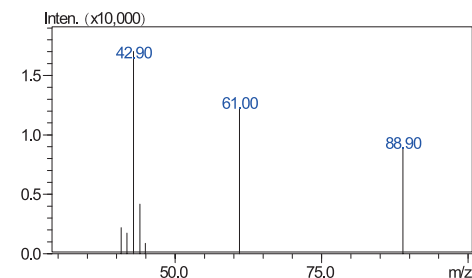


图8 产物离子扫描质谱图 (CE值-35V)

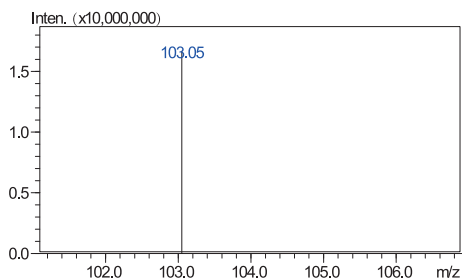


图9 NDEA的一级质谱图

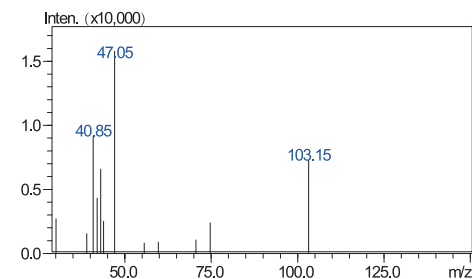


图10 产物离子扫描质谱图 (CE值-35V)

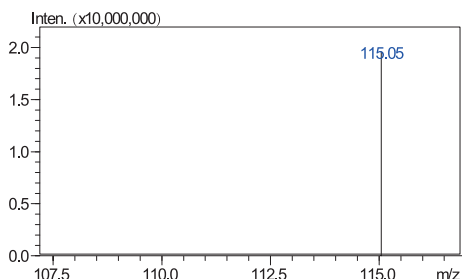


图11 NPip的一级质谱图

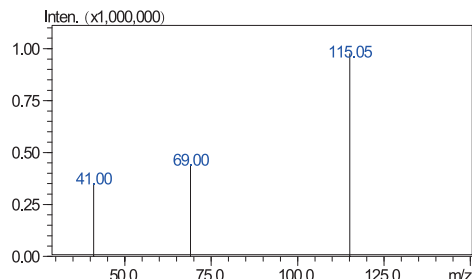


图12 产物离子扫描质谱图 (CE值-15V)

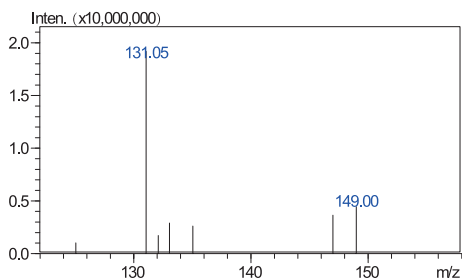


图13 NDPA的一级质谱图

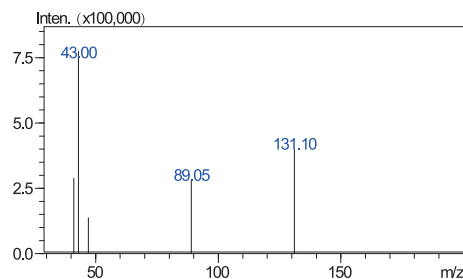


图14 产物离子扫描质谱图 (CE值-15V)

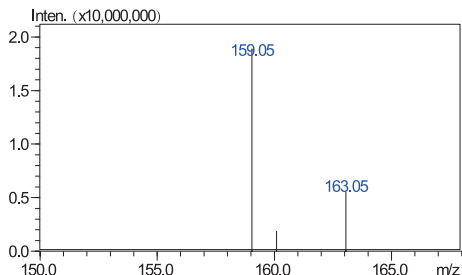


图15 NDPA的一级质谱图

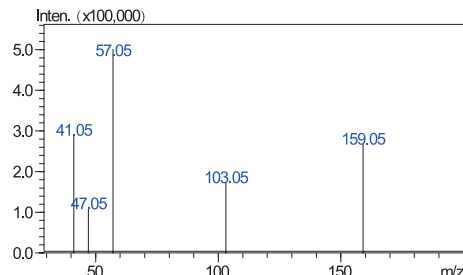


图16 产物离子扫描质谱图 (CE值-15V)

2.1 标准品的 MRM 色谱图

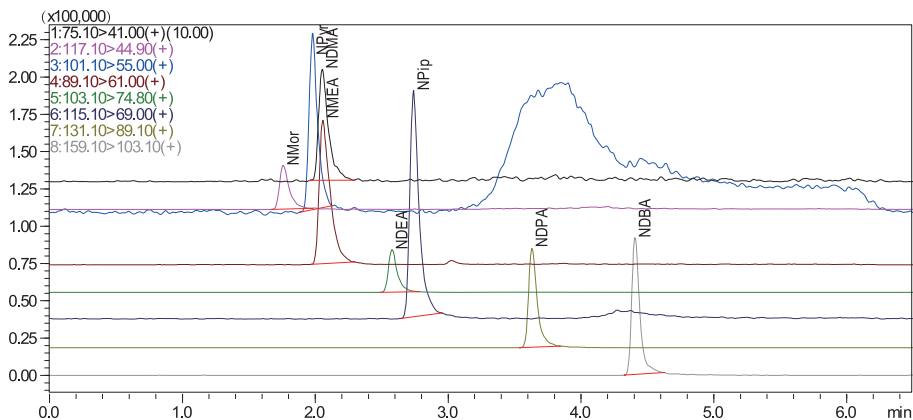


图17 50 $\mu\text{g/L}$ 8种N-亚硝胺标准品色谱图

2.2 线性关系

将浓度为 1, 2, 5, 50, 100, 200 和 500 $\mu\text{g/L}$ NMor 的标准工作液, 浓度为 5, 10, 50, 100, 200 和 500 $\mu\text{g/L}$ NDMA 和 NPy 的混合标准工作液, 浓度为 0.5, 1, 2, 10, 50, 100, 200 和 500 $\mu\text{g/L}$ NMEA, NDEA, NPip, NDPA 和 NDBA 的混合标准工作液, 按 1.2 中的分析条件进行测定, 以浓度为横坐标, 峰面积为纵坐标, 外标法制作校准曲线, 如图 18~25 所示, 线性方程、线性范围和相关系数见表 3。

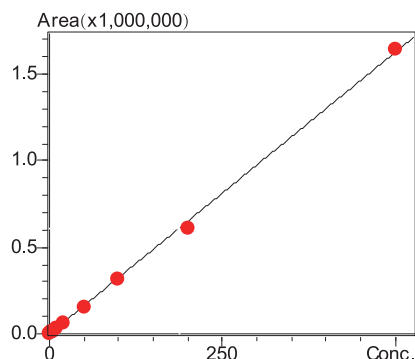


图18 NMor标准曲线

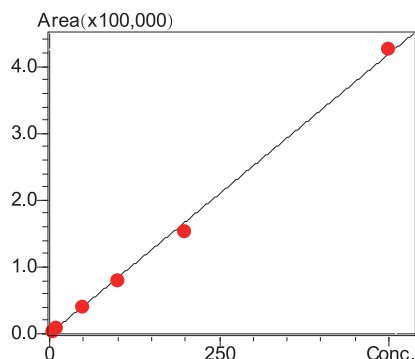


图19 NDMA标准曲线

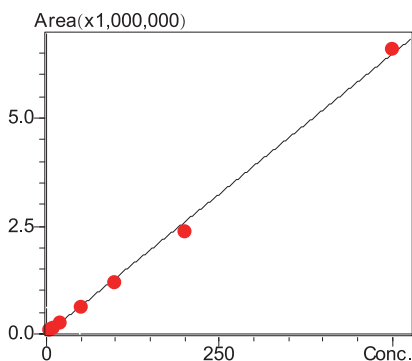


图20 NPyr标准曲线

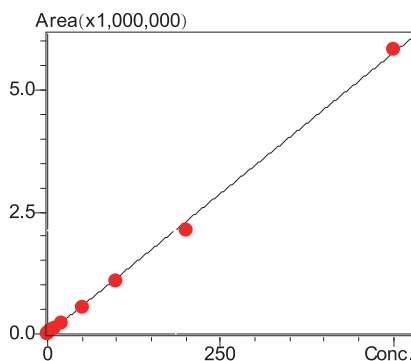


图21 NMEA标准曲线

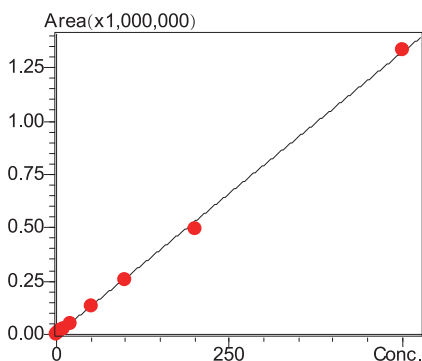


图22 NDEA标准曲线

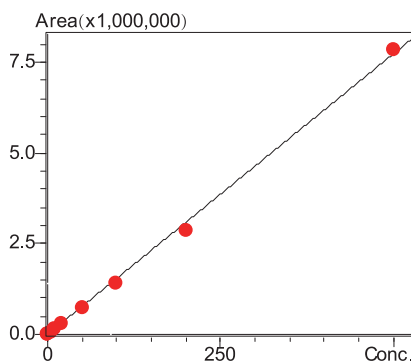


图23 NPip标准曲线

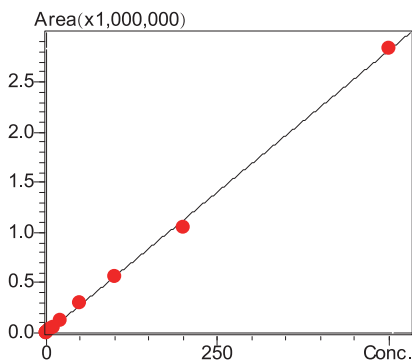


图24 NDPA标准曲线

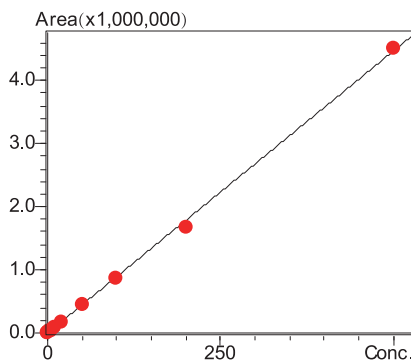


图25 NDBA标准曲线

表3 8种N-亚硝胺化合物的校准曲线参数

编号	名称	校准曲线	线性范围 (μg/L)	相关系数 r
1	NMor	$Y = (3253.08)X$	1~500	0.9995
2	NDMA	$Y = (837.734)X$	5~500	0.9989
3	NPyr	$Y = (12970.1)X$	5~500	0.9990
4	NMEA	$Y = (11516.3)X$	0.5~500	0.9994
5	NDEA	$Y = (2645.38)X$	0.5~500	0.9996
6	NPip	$Y = (15452.5)X$	0.5~500	0.9992
7	NDPA	$Y = (5625.56)X$	0.5~500	0.9995
8	NDBA	$Y = (8932.15)X$	0.5~500	0.9996

2.3 重复性实验

配制如表 4 浓度的混合标液，平行测试 6 次。NMor 级别 1 为 2 mg/L，级别 2 为 10 mg/L，级别 3 为 100 mg/L；NDMA 和 NPyr 级别 1 为 10 mg/L，级别 2 为 50 mg/L，级别 3 为 100 mg/L；NMEA, NDEA, NPip, NDPA 和 NDBA 级别 1 为 1 mg/L，级别 2 为 10 mg/L，级别 3 为 100 mg/L。8 种目标化合物的保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.02 ~ 0.11% 和 1.03 ~ 3.63% 之间，仪器精密度良好。

表4 保留时间和峰面积重复性结果 (n=6)

样品名称	RSD% (级别 1)		RSD% (级别 2)		RSD% (级别 3)	
	R.T	Area	R.T	Area	R.T	Area
NMor	0.18	2.86	0.17	2.30	0.16	1.79
NDMA	0.16	3.64	0.12	2.33	0.12	1.97
NPyr	0.16	2.97	0.13	1.84	0.13	1.36
NMEA	0.30	3.04	0.20	1.73	0.14	1.53
NDEA	0.31	3.07	0.20	2.19	0.12	1.93
NPip	0.15	2.71	0.12	1.83	0.10	1.68
NDPA	0.14	2.25	0.06	1.82	0.09	1.44
NDBA	0.09	3.01	0.05	2.64	0.05	1.46

2.4 灵敏度

配制如表 4 浓度的混合标样 7 份，直接进样分析，根据 HJ 168-2010 规定对上述测定结果剔除离群值后将各自的 7 次测定结果计算其标准偏差 S，此时检出限 MDL = 3.14 × S，定量限 LOQ=4 × MDL，测定结果如表 5 所示。

表5 8种N-亚硝胺的检出限和定量限

No.	名称	浓度 (μg/L)	标准偏差(S)	检出限(μg/L)	定量限(μg/L)
1	NMor	1.0	0.041	0.13	0.52
2	NDMA	5.0	0.127	0.40	1.60
3	NPyr	5.0	0.231	0.72	2.88
4	NMEA	0.5	0.020	0.06	0.24
5	NDEA	0.5	0.032	0.10	0.40
6	NPip	0.5	0.026	0.08	0.32
7	NDPA	0.5	0.012	0.04	0.16
8	NDBA	0.5	0.021	0.07	0.28

2.5 基质加标实验

在按照 1.3 中样品制备方法，采样滤膜处理后获得的空白基质中添加混合标样，加标含量如表 6，各平行 3 次，测试结果见表 6。采样滤膜的色谱图如图 26 所示，加标样品色谱图如图 27 所示。

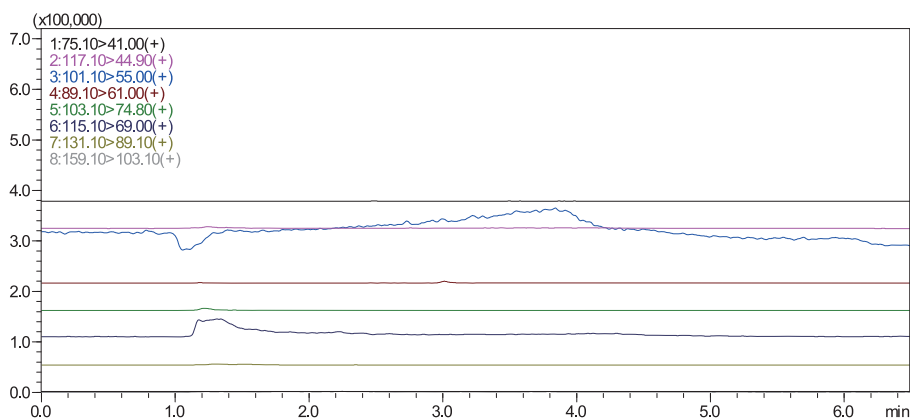


图26 采样滤膜处理后空白基质色谱图

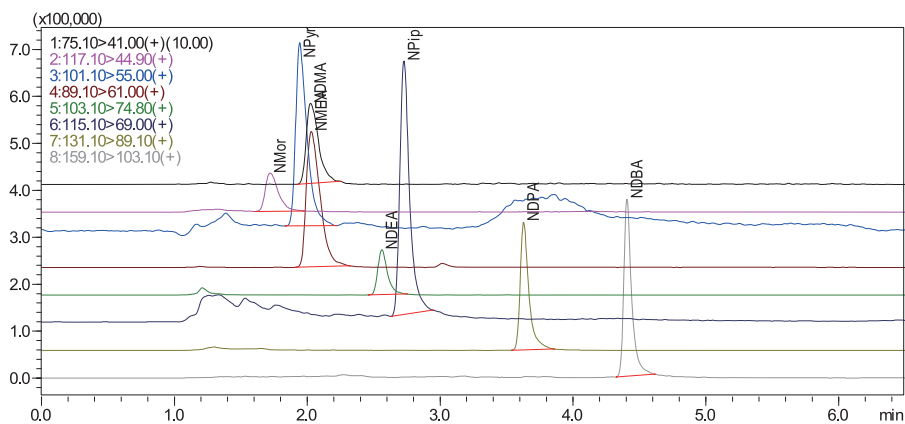


图27 基质加标后色谱图

表6 加标样的回收率结果 (n=4)

样品名称	回收率 (%)		
	10 µg/L	50 µg/L	200 µg/L
NMor	75.8%	79.3%	77.7%
NDMA	70.1%	75.9%	73.1%
NPy	84.5%	88.1%	91.6%
NMEA	84.3%	88.0%	87.0%
NDEA	81.7%	89.6%	92.1%
NPip	73.8%	83.0%	86.2%
NDPA	94.0%	97.0%	97.1%
NDBA	87.9%	89.6%	94.5%

2.6 实际样品分析

在按照 1.3 中样品制备方法，抽取某地某天采样滤膜处理后进样分析，所测试的采样滤膜的色谱图如图 28 所示，其中 NMor 的浓度为 34.5 mg/L，NMEA 的浓度为 6.3 mg/L，NDBA 的浓度为 4.3 mg/L，其他 N-亚硝胺类物质未检出。

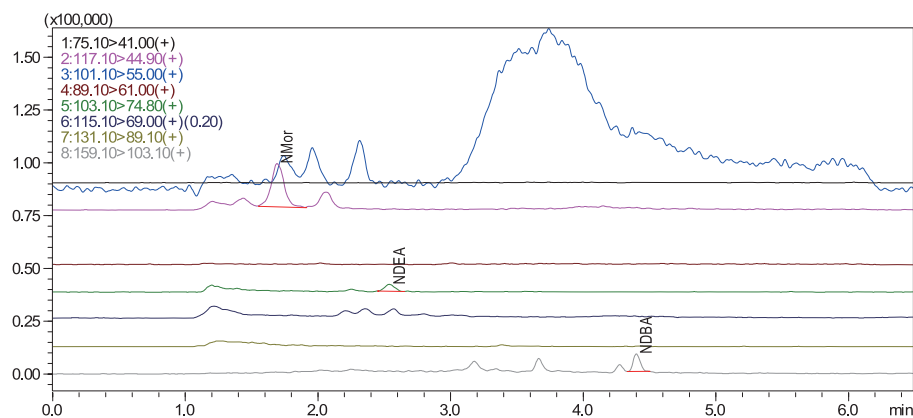


图27 某地某日采样滤膜上机分析的色谱图

结论

本文建立了超高效液相色谱 – 三重四极杆质谱联用技术同时测定大气颗粒物中 8 种 N-亚硝胺的方法。仪器的重复性良好，不同浓度混合标准溶液连续进样 6 次，保留时间和峰面积相对标准规偏差分别在 0.5% 和 4% 以下。8 种 N-亚硝胺类的线性良好，相关系数均大于 0.998，定量限为 0.16 $\mu\text{g/L}$ ~2.88 $\mu\text{g/L}$ 。采样滤膜经过前处理后获得的空白基质加标，回收率在 70.1%~97.1% 之间。对未知样品进行检测，结果表明所分析滤膜中含有 34.5 mg/L NMor，6.3 mg/L NMEA，4.3 mg/L NDBA，其他 N-亚硝胺类物质未检出。本法简单、快速、准确，能满足测定大气颗粒物中 8 种 N-亚硝胺的需求。