

HS-SPME/GC/MS 法测定水中土臭素和 2-甲基异莰醇的条件优化

彭世富¹, 丁震^{2*}, 夏卫文³, 郑浩², 夏玉婷², 陈晓东^{2*}

(¹东南大学公共卫生学院劳动卫生与环境卫生系, 江苏 南京 210009; ²江苏省疾病预防控制中心, 江苏 南京 210009;

³金坛市疾病预防控制中心, 江苏 金坛 213200)

[摘要] 目的:探索顶空固相微萃取-气相色谱/质谱法(HS-SPME/GC/MS)测定水中臭味物质土臭素(GSM)和2-甲基异莰醇(2-MIB)的最佳实验条件。方法:应用 $L_{32}(4^9)$ 正交表安排顶空固相微萃取-气相色谱/质谱法测定水中臭味物质时的萃取温度、萃取时间、搅拌子转速、盐浓度、解吸时间和解吸温度并进行实验,优化各项操作参数。结果:顶空固相微萃取-气相色谱/质谱法测定水中臭味物质的优化后实验条件是:萃取温度和解吸温度分别为65℃和260℃,萃取时间和解吸时间分别是40 min和7 min,搅拌子转速是600 r/min,盐浓度为30%(W/V)。分别测定高低加标样,回收率为91%~107%,检出限(S/N=3)为0.04 ng/L,回收率为91%~104%,检出限(S/N=3)为0.13 ng/L。结论:通过正交实验设计优化实验条件,所建立的分析方法准确、简便、可靠,符合水中臭味物质的测定要求。

[关键词] 顶空固相微萃取;臭味物质;气相色谱/质谱;正交设计

[中图分类号] R123.1,R123.2

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-4368(2013)08-1146-06

doi:10.7655/NYDXBNS20130825

Determination of GSM and 2-MIB in natural water by headspace solid-phase micro-extraction coupled with gas chromatography/mass spectrometry

Peng Shifu¹, Ding Zhen^{2*}, Xia Weiwen³, Zheng Hao², Xia Yuting², Chen Xiaodong^{2*}

(¹School of Public Health, Southeast University, Nanjing 210009; ²Jiangsu Center for Disease Control and Prevention, Nanjing 210009; ³Jintan Center for Disease Control and Prevention, Jintan 213200, China)

[Abstract] **Objective:** To optimize the conditions for determination of the earthy and musty odors geosmin, 2-methylisoborneol (2-MIB) in natural water by headspace solid-phase micro-extraction (SPME) coupled with gas chromatography/mass spectrometry and to establish a proposed method for determining the typical odor compounds in water. **Methods:** By applying the orthogonal experiment design $L_{32}(4^9)$ to arrange the determination conditions, several parameters of the extraction and desorption were studied and optimized (such as extraction temperature, desorption temperature, extraction time, ionic strength and rotate-speed), and some other parameters (such as correlation coefficient, limits of detection, RSD and recovery) were applied to evaluate effect of this method. **Results:** The optimum temperature of extraction and desorption were 65℃ and 260℃, respectively; time of extraction and desorption were 40 min and 7 min, respectively; ionic strength, 30% (W/V); rotate-speed, 600 rpm. Under the optimized experimental conditions, limits of detection (S/N=3) were 0.04 and 0.42 ng/L for geosmin and MIB, respectively. Calculated calibration curves gave high levels of linearity with correlation coefficient values of 0.9999 for both of geosmin and MIB. Finally, the proposed method was applied to the analysis of seven standard water samples, which were previously analyzed and confirmed free of target analytes. The RSD were 2.75%~3.80% and 4.35%~7.6% for geosmin and 2-MIB, respectively, and the recovery values were 91%~107% and 91%~104% for geosmin and MIB, respectively. **Conclusion:** The method can be successfully applied to analyze earthy and musty odors in natural water.

[Key words] headspace solid-phase micro-extraction; musty odors; gas chromatography/mass spectrometry; orthogonal experiment design

[Acta Univ Med Nanjing, 2013, 33(8): 1146-1151]

[基金项目] 江苏省科技支撑计划(BE2011797);江苏省卫生厅医学科研项目(H201024)

*通信作者(Corresponding author), E-mail: jsxcd@126.com; jscdc@126.com

近年来,由于世界范围内饮用水中臭味事件的不断发生,水中臭味已成为人们关注的热点。饮用水中的异味会破坏水的感官性状,但由于致嗅物质的浓度极低($< 10 \text{ ng/L}$),从而造成异味物质定性、定量的困难。研究发现,国外饮用水中大多数嗅味物质是微生物代谢产物,如土臭素(GSM)和 2-甲基异茨醇(2-MIB)等^[1],其嗅阈值浓度极低,相应的国家标准限值也很低,给检测带来一定的困难^[2-3]。

目前对水中挥发性有机物的分析多通过富集的预处理方式,如吹扫捕集、液液萃取、闭环捕集、开环捕集及固相萃取等,结合气相色谱/质谱联用(GC/MS)或气相色谱/氢离子火焰检测器(GC/FID)等进行检测^[4-9]。但是,某些样品前处理方法往往存在操作费时、富集效率低、重现性差、易受基质干扰等缺点,从而限制了方法的进一步应用。近年来发展起来的顶空固相微萃取(HS-SPME)前处理技术,其操作简单、快速、无需溶剂,故在环境挥发有机物分析中得到越来越广泛的应用。笔者通过正交实验设计,优化了用于分析水中嗅味物质 GSM 和 2-MIB 的顶空固相微萃取-气相色谱/质谱法各项实验条件。

1 材料与方法

1.1 材料

300GC/MS/MS(美国布鲁克·道尔顿公司),MS Workstation Version7.0 工作站;固相微萃取 SPME 装置(美国 Supleco 公司),选择吸附涂层为 DVB/CAR/PDMS 的固相微萃取头^[10-11];磁力搅拌器;60 ml 螺口玻璃瓶(固相微萃取专用采样瓶),配 PTFE 涂层的硅胶橡胶垫。

标准样品:土臭素(100 $\mu\text{g/ml}$ 甲醇溶液)、2-甲基异茨醇(100 $\mu\text{g/ml}$ 甲醇溶液)、内标 2-异丁基-3-甲氧基吡嗪(100 $\mu\text{g/ml}$ 甲醇溶液)均购自美国 Supleco 公司,置于 4 $^{\circ}\text{C}$ 下避光保存。NaCl(优级纯),在 450 $^{\circ}\text{C}$ 下烘 2 h 后备用。

1.2 方法

1.2.1 气相色谱/质谱条件

色谱条件:VF-5MS 毛细管色谱柱(30 m \times 0.25 mm \times 0.5 μm)。色谱程序升温条件:初始温度 40 $^{\circ}\text{C}$,保持 5 min;以 8 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升至 160 $^{\circ}\text{C}$,保持 0 min;20 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升至 260 $^{\circ}\text{C}$,保持 0 min。进样口温度 250 $^{\circ}\text{C}$,不分流进样。

质谱条件:电子轰击(EI)源;电压 70 eV;离子源温度 230 $^{\circ}\text{C}$;传输线温度 260 $^{\circ}\text{C}$;质谱扫描方式:片段分割选择离子扫描。5 级分段扫描程序:15.0~18.4 min 扫描 2-异丁基-3-甲氧基吡嗪(IBMP)特征离子 94、124、151;18.4~19.0 min 扫描 2-MIB 特征离子 95、107、135;19.0~22.0 min 空扫;22.0~22.4 min 扫描 GSM 特征离子 112、125;22.4~25.0 min 空扫。土臭素、2-甲基异茨醇、2-异丁基-3-甲氧基吡嗪的定量离子(m/z)分别为 112、107、124。

1.2.2 顶空固相微萃取方法

在 60 ml 的顶空瓶中放入搅拌子及 40 ml 样品溶液,加入一定量的 NaCl,立即用带有 PTFE 涂层的硅胶橡胶垫的瓶盖密封,放入已设定恒定温度的水浴中。将固相微萃取针头刺穿瓶盖内密封的硅胶垫,推出萃取头暴露于顶空中。调节转速并萃取,一定时间后拔出萃取头并插入气相色谱进样口,进行气相色谱/质谱分析。

2 结果

2.1 顶空固相微萃取条件的优化

2.1.1 变换因素法的萃取条件

通过参阅国内外相关文献,均是按照变换因素法获得最佳萃取条件,即其他因素恒定不变下,测定某一个因素的不同水平的响应值,研究该单个因素对萃取效果的影响,从而得到该因素的最佳萃取条件。文献中所提及的最佳萃取条件已列于表 1。

2.1.2 正交设计优化实验条件

当土臭素和 2-甲基异茨醇的加标浓度均为 50 ng/L 的条件下,研究各萃取因素对萃取效率的

表 1 文献中所用的固相微萃取条件

Table 1 Optimal conditions based on related study

实验序号	萃取温度($^{\circ}\text{C}$)	萃取时间(min)	转子转速(r/min)	盐浓度(W/V,%)	解吸时间(min)	解吸温度($^{\circ}\text{C}$)
1 ^[12]	65	30	550	30	3	200
2 ^[13]	50	30	650	30	3	265
3 ^[10]	65	30	1000	32	3	240
4 ^[14]	65	30	-	25	2	250
5 ^[15]	70	30	1000	-	10	280
6 ^[16]	65	30	-	24	1	250

影响,另做1组平行试验,取2次峰面积的平均值作为测定结果。选用 $L_{32}(4^9)$ 正交表安排实验,通过实验分析选择最佳方案(表2)。

由表3统计结果可知,2-MIB最佳萃取条件是:萃取温度和解吸温度分别是60℃和260℃,萃取时间和解吸时间分别是40 min和7 min,搅拌子转速是600 r/min,盐浓度为30%(W/V),溶液pH为8。GSM最佳萃取条件是:萃取温度和解吸温度分别是70℃和260℃,萃取时间和解吸时间分别是40 min和7 min,搅拌子转速是600 r/min,盐浓度为25%(W/V),溶液pH为6。从表4中可知,对于2-MIB所有萃取因素均有显著性,而对于GSM有显著性的

只有萃取温度和萃取时间。综合上述2种物质的分析结果,现得出最佳的组合条件是萃取温度和解吸温度分别是65℃和260℃,萃取时间和解吸时间分别是40 min和7 min,搅拌子转速是600 r/min,盐浓度为30%(W/V),溶液pH为7。

2.2 质谱条件优化

本方法测定的目标物为2种,内标物为1种,按常规选择离子扫描方式,要选用8种离子在整个分析过程进行扫描,这种扫描方式使仪器的分辨率较低,从常规选择离子扫描可以看出,出峰时间相对接近的特征离子的峰形比较模糊,甚至重叠在一起(图1)。而采用片段分割选择离子扫描是把整个分析过

表2 $L_{32}(4^9)$ 正交表实验方案和测定结果

Table 2 Experimental design based on Taguchi's $L_{32}(4^9)$ orthogonal array and the response of peak area count by GC-MS

序号	固相微萃取因素							平均峰面积	
	萃取温度 (℃)	萃取时间 (min)	转子转速 (r/min)	盐浓度 (W/V, %)	解吸时间 (min)	解吸温度	溶液 pH	2-MIB ($\times 10^7$)	GSM ($\times 10^7$)
1	40	10	300	15	2	200	5	0.462	1.305
2	40	30	500	25	2	240	5	1.782	5.285
3	40	40	600	15	3	220	6	2.214	7.223
4	40	20	400	25	3	260	6	2.155	8.261
5	40	30	500	30	5	220	7	1.843	6.323
6	40	10	300	20	5	260	7	0.734	2.423
7	40	20	400	30	7	200	8	2.013	6.054
8	40	40	600	20	7	240	8	2.234	7.568
9	50	40	500	20	3	200	5	2.971	8.734
10	50	20	300	30	3	240	5	2.225	8.334
11	50	10	400	20	2	220	6	0.835	2.568
12	50	30	600	30	2	260	6	2.644	8.467
13	50	20	300	25	7	220	7	2.325	8.407
14	50	40	500	15	7	260	7	3.173	9.462
15	50	30	600	25	5	200	8	2.828	8.532
16	50	10	400	15	5	240	8	1.122	3.586
17	60	10	600	30	7	220	5	2.587	7.256
18	60	30	400	20	7	260	5	3.105	9.637
19	60	40	300	30	5	200	6	3.235	11.380
20	60	20	500	20	5	240	6	3.013	8.467
21	60	30	400	15	3	200	7	3.089	9.435
22	60	10	600	25	3	240	7	2.793	7.315
23	60	20	500	15	2	220	8	2.958	8.316
24	60	40	300	25	2	260	8	3.273	11.490
25	70	40	400	25	5	220	5	2.843	10.780
26	70	20	600	15	5	260	5	2.772	15.850
27	70	10	500	25	7	200	6	2.336	9.886
28	70	30	300	15	7	240	6	3.131	13.410
29	70	20	600	20	2	200	7	2.563	13.270
30	70	40	400	30	2	240	7	2.656	12.780
31	70	30	300	20	3	220	8	2.895	12.920
32	70	10	500	30	3	260	8	2.324	8.737

表 3 $L_{32}(4^9)$ 的基本计算

Table 3 Basic analytical results of orthogonal experiment design $L_{32}(4^9)$

	K 值	萃取温度	萃取时间	转速	盐浓度	解吸时间	解吸温度	溶液 pH
2-MIB($\times 10^7$)	K1	13.437	13.193	18.280	18.921	17.173	19.497	18.747
	K2	18.123	20.024	17.818	18.350	20.666	18.500	19.563
	K3	24.053	21.317	20.400	20.335	18.390	18.956	19.176
	K4	21.520	22.599	20.635	19.527	20.904	20.180	19.647
GSM($\times 10^7$)	K1	44.442	43.076	69.669	68.587	63.481	68.596	67.181
	K2	58.090	76.959	63.101	65.587	70.959	63.793	69.662
	K3	73.296	74.009	65.210	69.956	67.341	66.745	69.415
	K4	97.633	79.417	75.481	69.331	71.680	74.327	67.203

表 4 $L_{32}(4^9)$ 正交表的方差分析

Table 4 Analysis of variance of the main factors on the respective peak area of headspace volatile odors in simulated water samples

方差来源	自由度	平方和	2-MIB 均方	F 值	P 值	自由度	平方和	GSM 均方	F 值	P 值
萃取温度	3	7.910	2.637	100.8	<0.05	3	194.852	64.951	56.1	<0.05
萃取时间	3	6.596	2.199		<0.05	3	108.424	36.141	31.2	<0.05
转速	3	0.778	0.260	84.1	<0.05	3	11.250	3.750	3.2	
盐浓度	3	0.271	0.090	9.9	<0.05	3	1.404	0.468	0.4	
解吸时间	3	1.224	0.408	3.45	<0.05	3	5.328	1.776	1.5	
解吸温度	3	0.196	0.065	15.6	<0.05	3	7.391	2.464	2.1	
溶液 pH	3	0.064	0.021	2.50		3	0.692	0.231	0.2	
误差	10	0.261	0.026	0.81		10	11.562	1.156		

程分成 5 个时间段,在每一个时间段内只扫描对应目标物的离子,这样就排除了保留时间接近的其他

特征离子的干扰,使特征离子峰形绘制得更精确细致,峰形得到很好的改善(图 2)。

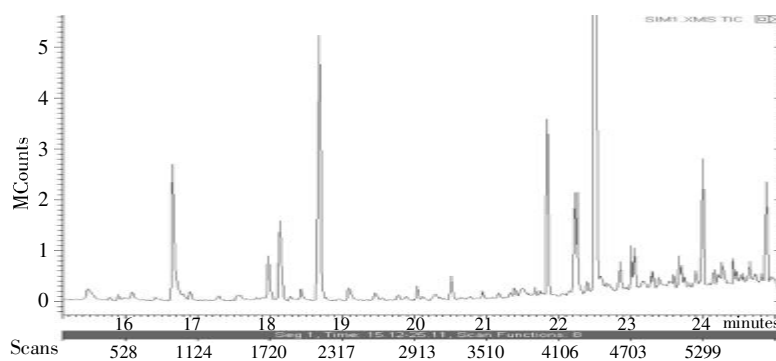


图 1 常规选择离子扫描

Figure 1 Not using segments for the determination of analytes in SIM mode

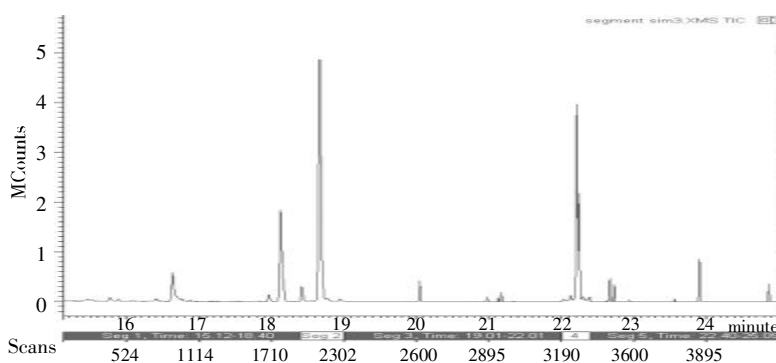


图 2 片段切割选择离子扫描

Figure 2 The MS scan function (SIM mode) for the determination of analytes

在相同的色谱条件下,本方法采用短程选择离子扫描。这种扫描方式中,在采用相同驻留时间的条件下,特征离子的扫描频率比常规选择离子扫描方式高3倍左右,同时因为忽略了其他大多数无关离子,使噪声信号得以大大减弱,仪器的分辨率提高,所得到的谱图更精确,各种化合物的峰形得到明显改善,信噪比显著提高。两种不同扫描方式信噪比见表5,从表中可以看出,采用短程选择离子扫描信噪比提高了3倍以上。

表5 在相同浓度下两种选择离子扫描方式信噪比(S/N)及其比值

Table 5 Comparison of signal to noise ratio (S/N) by two methods

组分	定量离子	P(ng/L)	S/N1	S/N2	(S/N1)/(S/N2)
IBMP	124	10	6 899	731	3.98
2-MIB	95	10	46	6	2.26
GSM	112	10	737	44	6.46

S/N1:短程选择离子扫描方式信噪比;S/N2:常规选择离子扫描方式信噪比。

2.3 方法的线性范围、检出限、精密度和准确度

2.3.1 标准曲线及检测限

配制5种不同浓度的GSM与2-MIB混合标准溶液,最低浓度在最低检出质量浓度附近,配制浓度为5.0、10.0、20.0、50.0、100.0 ng/L。取40 ml标准混合溶液,加入浓度为0.2 ng/ μ l的内标(IBMP)2 μ l。以空白加标测定色谱信噪比,以色谱峰3倍信噪比(S/N=3)对应的浓度为定性检出限(LOD),10倍信噪比

(S/N=10)对应的浓度为定量下限(LOQ),即最低检测质量浓度(表6)。

表6 GSM与2-MIB的标准曲线及方法的检出限

Table 6 Calibration curves, limits of detection for 2-MIB and GSM

目标物质	曲线方程	R	LOD(ng/L)	LOQ(ng/L)
2-MIB	$\hat{y}=0.1358x+0.0334$	0.9999	0.13	0.42
GSM	$\hat{y}=1.6583x+0.3079$	0.9999	0.04	0.14

2.3.2 精密度

配制浓度为20 ng/L和100 ng/L的标样7支,连续进样,计算精密度(RSD),结果见表7。

表7 方法的精密度

Table 7 The accuracy of detection for 2-MIB and GSM

编号	2-MIB		GSM	
	20 ng/L	100 ng/L	20 ng/L	100 ng/L
1	24.21	93.81	19.32	102.05
2	24.34	90.10	20.51	100.71
3	3.24	102.04	20.58	102.12
4	22.60	95.93	21.85	100.57
5	22.06	93.95	20.63	106.71
6	20.22	90.99	20.44	105.68
7	20.21	91.19	19.84	107.16
RSD(%)	7.60	4.35	3.80	2.75

2.3.3 回收率

采集实验室超纯水、自来水以及南方某水源水样,按照优化的顶空固相微萃取条件富集土臭素及2-甲基异莰醇,再通过GC/MS法进行测定,测定结果如表8。

表8 加标回收试验测定结果

Table 8 Recovery of environmental samples

样品类型	水样测试结果 (ng/L)	加标测试结果(ng/L)		加标回收率(%)	
		加标浓度(20 ng/L)	加标浓度(100 ng/L)	加标浓度(20 ng/L)	加标浓度(100 ng/L)
2-MIB	纯水	<0.14	20.82	91.99	104.0
	自来水	1.82	23.93	95.32	110.0
	原水	2.95	23.62	94.02	103.0
GSM	纯水	<0.42	21.44	103.7	107.0
	自来水	1.97	20.14	101.6	90.8
	原水	2.65	22.11	104.8	97.3

3 讨论

由分析结果可知,2种臭味物质的最佳萃取条件几乎一致,但2-MIB最佳萃取温度并不是设定的最高温度,原因可能是温度过高时,萃取瓶中会产生大量水蒸汽,这样会富集在萃取纤维的表面,从而影响萃取纤维的富集效果,也与2种物质对于吸附涂

层的亲和力有关,亲和力强且分子量大的物质会夺取吸附电位^[17],从而影响纤维的吸附能力。

在对臭味物质进行定量时,对质谱条件进行了优化,并没有采用各个组分的特征离子在整个分析过程中扫描,而采用片段分割选择离子扫描,即把整个分析过程分成5个时间段,在每一个时间段内只扫描对应目标物的离子,这样就排除了保留时间接

近的其他特征离子的干扰,使特征离子峰形绘制得更精确细致,峰形得到很好的改善,定量结果更准确可靠。

顶空固相微萃取法具有简便、快速、灵敏等特点,能够较理想的富集水中的臭味物质,我国《生活饮用水卫生标准》(GB5749-2006) 在附录 A 中已出现几种臭味物质如:GSM 和 2-MIB 的限值,但在配套的检测方法 GB5750-2006 中并没有相关的国标检测方法,笔者通过正交实验设计,全面优化萃取过程中的影响因素,从而为检测水中臭味物质提供了理论依据。

[参考文献]

- [1] Hu TL,Chiang PC. Odorous compounds from a cyanobacterium in a water purification plant in Central Taiwan[J]. *Water Res*,1996,30(10):2522-2525
- [2] 徐 盈,黎 雯,吴文忠,等. 东湖富营养水体中藻菌异味性次生代谢产物的研究 [J]. *生态学报*,1999(2): 212-216
- [3] Li L,Chen W. Determination of earthy/musty odorous metabolites in lakes and ponds in China [R]. Abstracts of 5th Asia-Pacific Conference on Algal Biotechnology, 2003:124
- [4] Martinez E,Lacorte S,Llobet I,et al. Multicomponent analysis of volatile organic compounds in water by automated purge and trap coupled to gas chromatography-mass spectrometry[J]. *J Chromatogr A*,2002,959(1-2): 181-190
- [5] 巢 猛,陈贻球,戴晓莹. 吹扫-捕集/气质联用法测定水中硫醚类致嗅物 [J]. *中国给水排水*,2011,27(6): 94-96
- [6] 沈 斐,苏晓燕,许燕娟,等. 吹扫捕集-GC/MS 法测定饮用水中致嗅物质[J]. *环境监测管理与技术*,2010,22(5):31-34
- [7] 王美飞,杨丽莉,胡恩宇,等. 液-液萃取-气相色谱法同时测定地表水中 17 种硝基苯类和氯苯类化合物[J]. *中国环境监测*,2011,27(1):19-23
- [8] Mitjans D,Ventura F. Determination of fragrances at ng/L levels using CLSA and GC/MS detection [J]. *Water Sci Technol*,2005,52(10-11):145-150
- [9] Chen B,Wang W,Huang Y. Cigarette filters as adsorbents of solid-phase extraction for determination of fluoroquinolone antibiotics in environmental water samples coupled with high-performance liquid chromatography[J]. *Talanta*,2012,88:237-243
- [10] 陈克云,于建伟,孙道林,等. 顶空固相微萃取-气相色谱/质谱法测定水中藻源臭味物质[J]. *中国给水排水*,2011,27(12):94-98
- [11] Saito K,Okamura K,Kataoka H. Determination of musty odorants,2-methylisoborneol and geosmin,in environmental water by headspace solid-phase microextraction and gas chromatography--mass spectrometry [J]. *J Chromatogr A*,2008,1186(1-2):434-437
- [12] APHA,AWWA,WPCF. Supplement to standard methods for the examination of water and wastewater[S]. 20th ed., Denver, Colorado, USA,2000
- [13] Sung YH,Li TY,Huang SD. Analysis of earthy and musty odors in water samples by solid-phase microextraction coupled with gas chromatography/ion trap mass spectrometry[J]. *Talanta*,2005,65(2):518-524
- [14] 方菲菲,于建伟,杨 敏,等. 顶空固相微萃取法用于测定水中二甲基三硫醚[J]. *中国给水排水*,2009,25(6): 86-89
- [15] Saito K,Okamura K,Kataoka H. Determination of musty odorants,2-methylisoborneol and geosmin,in environmental water by headspace solid-phase microextraction and gas chromatography--mass spectrometry [J]. *J Chromatogr A*,2008,1186(1-2):434-437
- [16] 张锡辉,伍婧娉,王治军,等. HS-SPME-GC 法测定水中典型臭味物质[J]. *中国给水排水*,2007,23(2):78-82
- [17] Murray RA. Limitations to the use of solid-phase microextraction for quantitation of mixture of volatile organic sulfur compounds [J]. *Anal Chem*,2001,73 (7):1646-1649

[收稿日期] 2012-12-03