

分析与监测

DOI: 10. 19853/j. zgjssps. 1000-4602. 2023. 02. 023

在线SPE-HPLC法测定水中N-亚硝基二甲胺

沈琳璐, 沈吉敏, 康晶, 王斌远, 赵晟铎, 闫鹏魏, 陈忠林
(哈尔滨工业大学环境学院 城市水资源与水环境国家重点实验室, 黑龙江
哈尔滨 150090)

摘要: 水中N-亚硝基二甲胺(NDMA)的快速准确定量测定一直是国内外相关研究人员关注的一个难题。建立了采用在线固相萃取-高效液相色谱法(online SPE-HPLC)快速测定水中N-亚硝基二甲胺的方法。水样经Hypersil GOLD aQ固相萃取小柱在线富集后,通过六通阀切换改变管路流向,以乙腈-水作为流动相进行洗脱,采用Thermo Acclaim PA II分析柱进行组分分离,通过二极管阵列检测器(DAD)进行检测。方法的检出限(LOD)为0.025 $\mu\text{g/L}$ 、定量限为0.07 $\mu\text{g/L}$,NDMA在0.09~20 $\mu\text{g/L}$ 范围内线性关系良好($R^2=0.9997$),回收率为95.28%~114.93%,相对标准偏差 $\leq 9.72\%$ 。该方法仅需进样2.5 mL、耗时10 min,即可实现样品的自动固相萃取、洗脱分析,无需复杂的手动预处理过程,操作简便快捷、成本适中,可实现快速准确地检测水样中NDMA浓度,可满足我国有关饮用水卫生标准对NDMA检测的需求。

关键词: N-亚硝基二甲胺; 快速测定方法; 在线固相萃取; 高效液相色谱; 二极管阵列检测器

中图分类号: TU991 文献标识码: B 文章编号: 1000-4602(2023)02-0133-06

Online Solid Phase Extraction Coupled With High Performance Liquid Chromatography for Rapid Determination of N-nitrosodimethylamine in Water

SHEN Lin-lu, SHEN Ji-min, KANG Jing, WANG Bin-yuan, ZHAO Sheng-xin,
YAN Peng-wei, CHEN Zhong-lin

(State Key Laboratory of Urban Water Resource and Environment, School of Environment, Harbin
Institute of Technology, Harbin 150090, China)

Abstract: Rapid and accurate quantitative determination of N-nitrosodimethylamine (NDMA) in water has always been a difficult problem concerned by researchers at home and abroad. A method for rapid determination of NDMA in water was developed based on online solid phase extraction coupled with high performance liquid chromatography (online SPE-HPLC). After the water samples were enriched online by Hypersil GOLD aQ solid phase extraction column, the flow direction of the pipeline was changed through a six-way valve switch, acetonitrile and water were used as the mobile phase for elution of NDMA, and the components were separated by Thermo Acclaim PA II column and detected by diode array detector (DAD). The limit of detection (LOD) of this method was 0.025 $\mu\text{g/L}$, and the limit of

基金项目: 国家重点研发计划项目(2019YFD1100104)

通信作者: 陈忠林 E-mail: zhonglinchen@hit.edu.cn

quantification (LOQ) was 0.07 $\mu\text{g/L}$. NDMA had good linearity in the range of 0.09–20 $\mu\text{g/L}$ ($R^2=0.9997$), the recoveries of NDMA were 95.28%–114.93%, and the relative standard deviation was less than 9.72%. The method only consumed 2.5 mL sample volumes and could automatically realize solid phase extraction, elution and analysis of samples in 10 min. The method does not require complex manual pretreatment process, and it is simple, quick and cost-effective, and can achieve rapid and accurate detection of NDMA concentration in water samples, which can meet the requirements of drinking water standards for NDMA detection in China.

Key words: N-nitrosodimethylamine (NDMA); rapid determination method; online solid phase extraction (online SPE); high performance liquid chromatography (HPLC); diode array detector (DAD)

N-亚硝基二甲胺(NDMA),作为一种新型含氮消毒副产物(N-DBPs),具有强烈“致癌、致畸、致突变”的风险。NDMA是一种小分子化合物,具有高度水溶性(辛醇/水分配系数 K_{ow} 为0.27),性质稳定,在水中一旦生成后难以去除^[1]。

在采用氯消毒、氯胺消毒或臭氧消毒工艺的饮用水处理过程中,NDMA的检出率较高,对饮用水安全造成了潜在威胁,受到了国内外学者的广泛关注^[2]。

针对水中NDMA的频繁检出,加拿大、美国、日本等一些国家和地区已经制订了相应的水质标准以控制其在饮用水中的浓度,世界卫生组织(WHO)也建议饮用水中的NDMA浓度不超过100 ng/L ^[3]。

近年来,我国对饮用水安全问题日益重视,对饮用水的要求逐渐从“合格水”向“优质水”过渡,以国标为基础,一些较发达地区相继发布了严于国标的地方饮用水水质标准,把NDMA列入水质提升的关键指标之一。如上海市《生活饮用水水质标准》(DB 31/T 1091—2018)、张家口市《生活饮用水水质标准》(DB 1307/T 286—2019)、深圳市《生活饮用水水质标准》(DB 4403/T 60—2020),均将NDMA列入非常规指标,规定了100 ng/L 的限值^[4]。

目前,我国尚未制定饮用水中NDMA的标准测定方法。测定水中NDMA浓度最常用的分析方法是美国环保署(EPA)开发的Method 521,利用固相萃取-气相色谱串联质谱(SPE-GC-MS/MS)进行检测^[5]。也有学者开发了固相萃取结合高效液相色谱串联质谱(SPE-HPLC-MS/MS)进行NDMA检测的方法^[6]。然而,这些传统的离线固相萃取方法操作

复杂且耗时长,均需要大体积样品(200~1 000 mL)进行富集,每个样品需要添加同位素标记的NDMA标准品(d6-NDMA)以降低预处理造成的损失,富集柱只能单次使用,成本高昂,不利于大范围推广应用。此外,曾有研究者开发了采用高效液相色谱直接测定水中NDMA的方法,但是其检测限、线性范围偏高,未能检测至100 ng/L 以下,无法满足当前对NDMA检测的要求^[7]。因此,本研究聚焦于开发一种操作简便、快速灵敏、准确性好、成本适中的NDMA检测方法,为我国更大范围提升饮用水水质提供技术支撑。

1 材料与方 法

1.1 仪器与试剂

高效液相色谱仪(UltiMate3000,美国赛默飞世尔科技公司),包括双三元梯度泵(配有在线脱气机)、自动进样器(配有2 500 μL 进样组件)、柱温箱、二极管阵列检测器(DAD);Milli-Q超纯水仪(德国默克密理博有限公司)。NDMA(纯度>99%)购自东京化成工业株式会社(TCI);乙腈和甲醇(色谱纯)购自美国Fisher Scientific Chemical公司。

1.2 标准溶液的配制

采用100 μL 微量进样器取100 μL 浓度为1 g/L 的NDMA标准品至10 mL棕色聚丙烯容量瓶内,用甲醇将其定容至刻度线,配制成10 mg/L 的NDMA储备液,-10 $^{\circ}\text{C}$ 下避光保存;测样之前,取10 mg/L 的NDMA储备液,用超纯水逐级稀释,定容至刻度线,配制成0.09、0.1、0.2、0.5、0.8、1、5、20 $\mu\text{g/L}$ 的标准溶液。

1.3 样品前处理

将不同浓度的NDMA标准溶液用0.22 μm 聚醚

砷(PES)水相针式滤头过滤至8 mL 进样棕色瓶中,以供后续测样。

1.4 仪器工作条件

1.4.1 液相色谱条件

所用高效液相色谱配备双三元梯度泵,左右两个泵可单独运行,从而实现在线固相萃取、洗脱分析的功能。本研究中将右泵设为富集泵,左泵设为分析泵。右泵流动相条件为:100%水,流速1.0 mL/min;左泵流动相条件为水/乙腈=95/5,流速2.0 mL/min。

在线固相萃取柱采用 Hypersil GOLD aQ (4.6 mm×100 mm, 3 μm, 美国赛默飞世尔科技公司),柱温 25 °C;分析柱采用 Thermo Acclaim PA II (4.6 mm×250 mm, 5 μm, 美国赛默飞世尔科技公司),柱温 25 °C;检测波长为 228 nm。

1.4.2 在线固相萃取-高效液相色谱分析流程

在线固相萃取-高效液相色谱分析流程如图1所示。

0~2 min,六通阀处于位置1[见图1(a)],左泵推动流动相对分析柱进行平衡,右泵流动相将自动进样器所取2.5 mL水样推动经过阀6、阀1,进入在线固相萃取柱进行萃取富集;2~4 min,六通阀切换至位置2[见图1(b)],左泵推动流动相将目标组分从在线固相萃取柱洗脱下来,进入分析柱;4~10 min,六通阀切换回位置1[见图1(a)],左泵流动相继续推动目标组分在分析柱中进行分离,进入DAD检测器进行分析,与此同时右泵流动相对在线固相萃取柱进行清洗、活化与平衡,以便为下一次分析做准备。

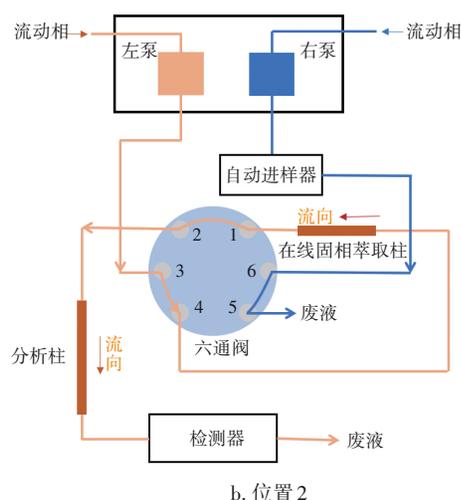
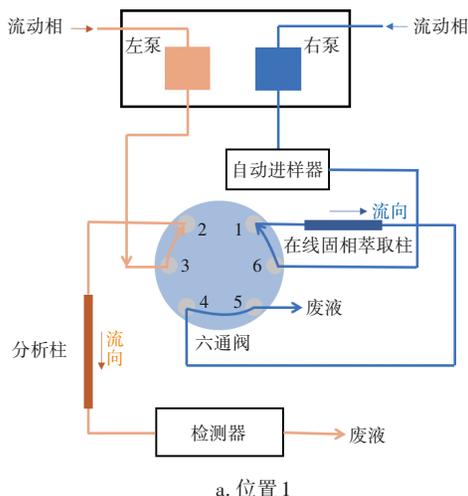


图1 在线固相萃取-洗脱分析过程中六通阀切换示意

Fig.1 Schematic diagram of six-way valve switching during online SPE-elution process

2 结果与讨论

2.1 在线固相萃取条件的优化

NDMA是一种小分子强极性化合物,易溶于水,也易溶于甲醇、乙腈、二氯甲烷等有机溶剂。在线固相萃取中,椰壳活性炭制成的固相萃取小柱最为常用,因为其对NDMA的吸附效果较佳,回收率较高^[8]。然而,椰壳活性炭固相萃取小柱成本高、无法重复使用,且萃取过程中仍有一部分损失。

由于NDMA具有很强的极性,选择较为适合的在线固相萃取柱是建立在在线固相萃取NDMA方法过程中的难点^[9]。

为达到较好的在线固相萃取效果,本研究尝试使用 Acclaim PA II (3.0 mm×30 mm, 3 μm)、Retain CX (3.0 mm×20 mm)、TurboFlow MCX-2 (1.0 mm×50 mm)、MAbPac Sex-10 (4 mm×150 mm, 5 μm)、hypercarb (3.0 mm×20 mm)、TurboFlow MCX-2 (1.0 mm×50 mm) 作为在线固相萃取柱,但以上色谱柱出峰时间均较短,几乎没有富集作用。Hypersil GOLD HILIC 柱 (4.6 mm×150 mm, 3 μm) 对NDMA有保留能力,但杂质响应较高且多次调整后目标物峰形仍有拖尾现象。

Hypersil GOLD aQ (4.6 mm×100 mm, 3 μm) 为极性封端C18色谱柱,适合极性化合物的保留和分离,在100%水流动相中非常稳定,对NDMA有较强的保留,色谱峰型尖锐、对称性好,故本研究采用Hypersil GOLD aQ柱(4.6 mm×100 mm, 3 μm)作为在线固相萃取柱。由于NDMA分子质量小、极性

强,极易被有机溶剂从富集柱上洗脱下来,为了保证较好的富集效果,本研究采用100%水作为富集过程的流动相。

进行在线固相萃取过程中,进样量是固相萃取柱吸附和解吸效果的重要影响因素^[9]。实验考察了不同进样量(500、1 000、1 500、2 000、2 500 μL)对NDMA色谱峰峰高的影响($n=7$),结果见图2。可见,NDMA峰高随着进样量的增大而增加,基本上呈线性关系,说明进样量增大后,NDMA未发生穿透现象,故本研究将进样量定为2 500 μL 。

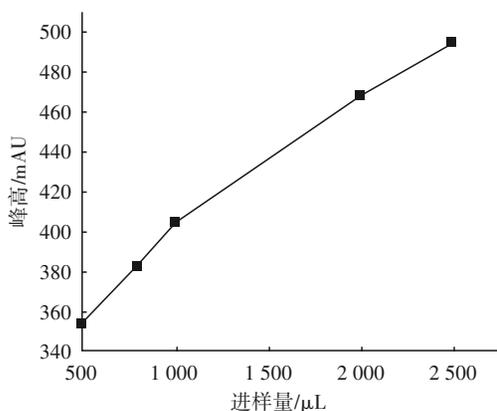


图2 不同进样量对NDMA峰高的影响($n=7$)

Fig.2 Influence of injected sample volumes on the peak height of NDMA($n=7$)

2.2 液相色谱条件的优化

先前的学者在用液相色谱对NDMA进行分析时,常采用甲醇-水作为流动相,以达到较好的分离效果,但甲醇对于NDMA的检测具有干扰作用。分别考察了乙腈-水、甲醇-水为分析泵(左泵)流动相对NDMA的分离效果。

实验观察了不同体积比(5/95、10/90、20/80、30/70、50/50)的甲醇/水作为流动相时NDMA的色谱峰形和响应强度,结果表明,当采用甲醇/水为10/90时,NDMA的色谱峰形较好;此外,实验也观察了不同体积比(5/95、10/90、20/80、30/70)的乙腈/水作为流动相时NDMA的色谱峰形和响应强度,结果表明,当流动相采用乙腈/水为5/95时,NDMA的出峰效果最佳。两种较佳条件下NDMA标准溶液(20 $\mu\text{g/L}$)的色谱图见图3。如图3所示,当采用乙腈/水为5/95的溶液作为流动相时,NDMA的响应值更高,峰形更好,且可以避免甲醇溶液对NDMA检测的影响。因此,本方法确定采用乙腈/水(5/95)作为色谱分析过程中的流动相。

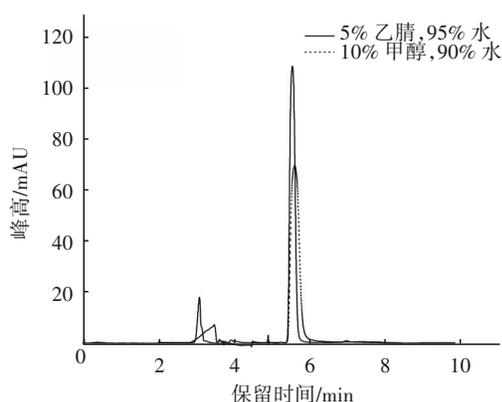


图3 不同洗脱溶剂对NDMA(20 $\mu\text{g/L}$)分离效果的影响

Fig.3 Influence of different elution solvents on the peak height of NDMA(20 $\mu\text{g/L}$)

此外,为了改善分离效果并获得最佳的NDMA峰形、降低空白中的杂峰干扰,本研究还配制了不同有机弱电解质的水溶液作为分析泵(左泵)水相,观察其对NDMA检测的影响。结果显示,当使用0.1%、0.2%、0.3%甲酸水溶液作为水相时,杂峰的响应值明显增强,且NDMA对应的色谱峰均出现了拖尾现象;当使用含0.1、0.2、1 mol/L醋酸铵的水溶液作为水相时,干扰峰增多,且NDMA峰形没有得到明显改善。基于以上结果,确定本方法采用纯水作为分析泵的水相流动相,出峰效果最好。

2.3 线性响应范围及方法检出限

将NDMA标准品稀释成0.09、0.1、0.2、0.5、0.8、1.5、20 $\mu\text{g/L}$ 的标准溶液,用优化后的最佳方法进行测定。以NDMA的浓度为横坐标(x , $\mu\text{g/L}$),峰高为纵坐标(y , mAU)绘制标准曲线,得到回归方程 $y=4.9022x+0.2818$ ($R^2=0.9997$)。

将一定浓度的NDMA进一步逐级稀释并测定多次,当信噪比(S/N)等于3时,得到本方法NDMA的检出限(LOD)为0.025 $\mu\text{g/L}$;当信噪比等于10时,得到定量限(LOQ)为0.07 $\mu\text{g/L}$ 。

2.4 检测方法的精密度、准确度、回收率

分别向超纯水样品、自来水样品中加入6种不同浓度的NDMA标准溶液进行定量分析,每个添加浓度平行实验7次,计算相对标准偏差和回收率。不同加标浓度(0.1、0.2、0.5、1.5、20 $\mu\text{g/L}$)下NDMA的回收率和相对标准偏差见表1。实验结果表明,采用本方法,NDMA的回收率范围为95.28%~114.93%,相对标准偏差 $\leq 9.72\%$,满足对NDMA的定量分析要求。

表1 NDMA加标回收率及相对标准偏差
Tab.1 Recovery rates and RSDs of NDMA

样品	检出量	加入量/ ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	测得量/ ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	回收率/%	RSD/%
超纯水	未检出	0.1	0.095	95.28	6.66
		0.2	0.20	97.98	8.47
		0.5	0.55	110.48	4.75
		1	1.11	110.52	3.26
		5	5.13	102.52	2.81
		20	19.89	99.43	1.14
自来水	未检出	0.1	0.11	114.93	7.33
		0.2	0.22	108.45	9.72
		0.5	0.48	96.49	5.38
		1	1.08	108.42	3.46
		5	4.95	98.95	0.91
		20	19.84	99.20	1.31

2.5 实际应用

取实验室自来水水样进行分析,未检出NDMA。采用自来水进行模拟配水实验,分别测定了臭氧(1 mg/L)氧化多种NDMA前体物(20 $\mu\text{mol/L}$)生成NDMA的情况,结果见图4。

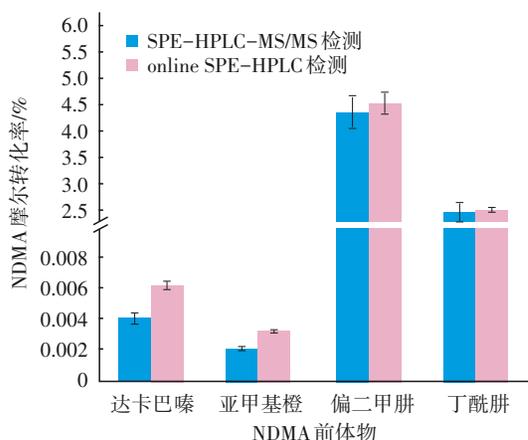


图4 本方法与文献检测方法测定不同前体物在臭氧氧化过程中生成NDMA的结果比较

Fig.4 Detection results comparison of NDMA formation from different precursors during ozonation by two methods

由图4可见,NDMA摩尔产率较低的前体物——达卡巴嗪、亚甲基橙的NDMA摩尔转化率分别为0.0062%和0.0032%;NDMA摩尔产率较高的前体物——丁酰肼、偏二甲肼的NDMA摩尔转化率可分别达2.53%和4.54%。该实验结果与用传统离线固相萃取-液相色谱-三重四极杆质谱(SPE-HPLC-MS/MS)检测方法^[10]测得的结果比较一致,说明本方法可以准确测定水中NDMA含量。同时,从

图4还可以看出,本方法的检测值略高于文献方法的检测值,这可能是由于文献所用的方法在预处理过程中造成了一定的NDMA损失所致。

如果采用离线固相萃取-液相色谱-三重四极杆质谱(SPE-HPLC-MS/MS)方法测定NDMA,从SPE小柱的活化,到样品的富集、洗脱、氮吹浓缩,再到样品处理后进入液相质谱检测,检测20个样品大约需要15 h;而用在线固相萃取-高效液相色谱法进行检测,进样2.5 mL,仅需约4 h就可以获得检测结果。本方法显著节省了分析成本与劳动力、缩短了分析时间、提高了工作效率。

3 结论

采用在线固相萃取-高效液相色谱法快速测定水中NDMA,由于在线固相萃取富集技术对样品量无损耗,水样的待测组分全部转移至分析柱,采用二极管阵列检测器即可达到0.07 $\mu\text{g/L}$ 的定量限,满足我国上海、深圳等地方饮用水卫生标准中关于NDMA限值检测的要求。水样经滤膜过滤后即可进样分析,操作简便快捷、成本适中,克服了传统离线萃取方法溶剂消耗量大、耗时长、待测组分有损失等问题。同时,全自动化操作也减少了实验人员操作的随机误差,降低了实验人员的健康风险,能满足对环境水样中NDMA快速监测的需求。

参考文献:

- [1] SGROI M, VAGLIASINDI F G A, SNYDER S A, *et al.* N-nitrosodimethylamine (NDMA) and its precursors in water and wastewater: a review on formation and removal [J]. *Chemosphere*, 2018, 191: 685-703.
- [2] ANDRZEJEWSKI P, KASPRZYK-HORDERN B, NAWROCKI J. N-nitrosodimethylamine (NDMA) formation during ozonation of dimethylamine-containing waters [J]. *Water Research*, 2008, 42(4/5): 863-870.
- [3] World Health Organization. Background Document for Development of WHO *Guidelines for Drinking-water Quality* [M]. Switzerland: WHO Press, 2008.
- [4] 朱慧峰. 上海市《生活饮用水水质标准》解读与高品质饮用水目标的展望 [J]. *净水技术*, 2018, 37(8): 39-44.
ZHU Huifeng. Reading of Shanghai *Water Quality Standards for Drinking Water* and prospects for high quality drinking water targets [J]. *Water Purification Technology*, 2018, 37(8): 39-44 (in Chinese).

- [5] USEPA. 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) (Version 1.0) [M]. U. S. A: USEPA, 2005.
- [6] PLUMLEE M H, LÓPEZ-MESAS M, HEIDLBERGER A, *et al.* N-nitrosodimethylamine (NDMA) removal by reverse osmosis and UV treatment and analysis via LC - MS/MS[J]. *Water Research*, 2008, 42(1/2): 347-355.
- [7] 陈忠林, 徐冰冰, 齐虹, 等. 高效液相色谱测定水中痕量亚硝基二甲胺[J]. *中国给水排水*, 2007, 23(8): 84-87.
CHEN Zhonglin, XU Bingbing, QI Hong, *et al.* Determination of trace nitrosodimethylamine in water by high performance liquid chromatogram [J]. *China Water & Wastewater*, 2007, 23 (8) : 84-87 (in Chinese).
- [8] 徐晓丽, 何莲, 郑全兴. 饮用水中二甲基亚硝胺检测方法研究进展[J]. *应用化工*, 2019, 48(6): 1491-1494.
XU Xiaoli, HE Lian, ZHENG Quanxing. Research progress on detection methods of dimethylnitrosamine in drinking water [J]. *Applied Chemical Industry*, 2019, 48(6): 1491-1494 (in Chinese).
- [9] BALEST L, MURGOLO S, SCIANCALEPORE L, *et al.* Ultra-trace levels analysis of microcystins and nodularin in surface water by on-line solid-phase extraction with high-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2016, 408(15): 4063-4071.
- [10] 刘津津, 廖晓斌, 周真明, 等. 高效液相色谱串联质谱法测定含藻水氯化消毒后 7 种亚硝胺物质[J]. *分析化学*, 2015, 43(4): 502-506.
LIU Jinjin, LIAO Xiaobin, ZHOU Zhenming, *et al.* Determination of seven N-nitrosamines in eutrophic drinking water after chlorination by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, 2015, 43(4) : 502-506 (in Chinese).

作者简介: 沈琳璐(1997-), 女, 福建漳州人, 博士研究生在读, 研究方向为饮用水处理及饮用水中消毒副产物。

E-mail: 20B929001@stu.hit.edu.cn

收稿日期: 2021-03-18

修回日期: 2021-03-29

(编辑: 孔红春)

加强湖泊管理保护

改善湖泊生态环境

维护湖泊健康生命