



顶空固相微萃取气质联用法直接测定 臭味物质的实验设计与实施

王俊霞¹, 闫广礼², 吴友谊¹, 钱飞跃^{1,2}

(1. 苏州科技大学 环境科学与工程学院, 苏州 215009; 2. 苏州科技大学 天平学院, 苏州 215009)

摘要: 基于“新工科”创新型人才培养的要求, 将最新科研成果用于研究生教学, 建立了集样品提取、净化于一体的顶空固相微萃取技术(HS-SPME)联合气质联用法, 准确分析太湖饮用水源地水样中 9 种臭味物质。该方法利用无有机溶剂消耗、样品用量少、富集效率和自动化程度高的顶空固相微萃取技术。该方法的教学充分发挥了前处理技术与仪器分析联合自动化的优势, 突破了传统样品前处理的繁琐步骤, 展现了环境样品中痕量有机污染物的自动化分析方法, 实现了教学与科研的深度融合。

关键词: 顶空固相微萃取; 直接测定; 臭味物质; 气质联用; 创新性实验

中图分类号: G642

文献标志码: A

DOI: 10.12179/1672-4550.20240165

Experimental Design and Implementation of Direct Determination of Odorous Substances by Headspace Solid Phase Microextraction Combined with Gas Chromatography-Mass Spectrometry

WANG Junxia¹, YAN Guangli², WU Youyi¹, QIAN Feiyue^{1,2}

(1. School of Environmental Science and Engineering, Suzhou University of Science and Technology, Suzhou 215009, China;

2. Tianping College, Suzhou University of Science and Technology, Suzhou 215009, China)

Abstract: Based on the requirements of the cultivation of innovative talents in new engineering, the previous scientific research results of teachers are applied to the experimental teaching of graduate students, and the headspace solid phase microextraction (HS-SPME) combined with selective ion detection mode GC-MS method is established to accurately analyze 9 odorous substances in water samples from the drinking water source of Taihu Lake, which integrates the sample extraction and purification. This HS-SPME technology has some advantages with low/solvent-free consumption, less sample consumption, high enrichment efficiency and high automation. The experimental teaching gives full play to the advantages of the joint automation of pretreatment technology and instrument analysis, breaks through the tedious steps of traditional sample pretreatment, shows the automatic analysis method of trace organic pollutants in environmental samples, and realizes the in-depth integration of teaching and scientific research.

Key words: headspace solid phase microextraction; direct measurement; odorous substances; gas chromatography-mass spectrometry; innovative experiment

新时代高等教育人才培养要求注重实践和研究, 研究生课程教学改革在各大高校渐次展开^[1-2]。研究生教育主要目标是为了培养拔尖人才, 即培养具备发现问题、解决问题和创新能力的卓越人才^[3-4]。不同环境介质(水、土、气)中污染

物风险评估和治理技术是环境类研究生的重点科研方向, 但建立准确的测定方法是环境类专业研究生亟须掌握的一个有用工具和开展研究的基石。

现代环境样品分析处理技术是针对环境科学

收稿日期: 2024-04-01

基金项目: 苏州科技大学研究生优质课程建设项目(23ZXKC-01); 江苏省高等教育教研教改重点项目(2023JSJG177)。

作者简介: 王俊霞, 博士, 讲师, 主要从事环境分析与监测技术方面的研究。E-mail: wangjunxia@usts.edu.cn

与工程专业研一新生的必修课。利用大型仪器来分析环境污染物前一般需要提取、富集和纯化过程。随着新型仪器设备的快速发展,这门课呈现出鲜明的特色,如内容更新快、自动化程度高和综合实践性强等突出特点,一些耗时长、步骤繁多的前处理技术已经无法满足现代化市场需求,因此研究生的课程也需要跟上时代发展,增加更多现代化和自动化技术。同时目前各大科研机构或高校开放了大型精密仪器预约平台,研究生仅需要基础培训和填写预约单便可使用大型仪器,这为拓展新的实验方法来培养创新型人才奠定了基础,也增加了大型仪器使用机时,促进了共享。

现代环境样品分析处理技术课程的实践课时占比较低,难以保证实验顺利开展,但传统的样品前处理技术耗时长且繁琐,导致学生的积极性不高。本文打破传统的样品提取、净化等繁琐的前处理步骤^[5-6],将顶空固相微萃取一体化技术联合气质联用法测定太湖饮用水源地水体中痕量臭味物质这一实验项目引入研究生实践,加强学生探究问题、解决问题和综合研究的能力,培养面向新时代的卓越工程人才。

1 实验教学设计

通过前期文献调研^[7-8],以测定太湖饮用水源地中痕量臭味物质为例,开展顶空固相微萃取联合气质联用技术,将科研成果融入实验教学,以期在现代环境样品前处理技术课程的教学改革注入新血液。

1.1 实验设计的目的和意义

随着人们生活水平不断提高,城镇居民对饮用水质量要求越来越高,水体臭味问题逐步引起人们关注。水体臭味产生原因多样,普遍认为水体富营养化是主要原因。富营养化会导致水生态系统的平衡遭到破坏,藻类疯长,不断分泌和产生各种具有臭味的次级代谢产物,这些物质会使饮用水感官指标下降,引起人们对水质的抱怨和质疑。太湖饮用水源地中臭味物质处于低水平,且成分复杂,如2015年夏季(5—9月)太湖东岸水体臭味爆发,经研究发现土臭素、2-甲基异莰醇、 β -环柠檬醛、 β -紫罗兰酮是主要污染物,它们被检出最高值分别为13.8、170.0、170.0、29.6 ng/L^[9]。

2013年太湖某饮用水源地水体中主要物质为2-甲基异莰醇^[10]。因此必须建立水体中痕量臭味物质准确性、定量分析方法。

1.2 实验水样、试剂和仪器

水样:利用采水器于2022年11月采集太湖饮用水源地湖水,倒入棕色玻璃采样瓶,且完全充满,4℃保温带回实验室。

试剂:土臭素(Geosmin)、2-甲基异莰醇(2-MIB)、2,4,6-三氯苯甲醚(2,4,6-TCA)、2-异丙基-3-甲氧基吡嗪(IPMP)、2-异丁基-3-甲氧基吡嗪(IBMP)、2,3,4-三氯苯甲醚(2,3,4-TCA)、2,3,6-三氯苯甲醚(2,3,6-TCA)、 β -环柠檬醛(β -cyclocitral)和 β -紫罗兰酮(β -ionone)共9种臭味物质的标准物质,浓度均为1000 mg/L,溶于甲醇,购买于上海市安普科技有限公司。

仪器:固相微萃取纤维为三合一的DVB/CAR/PDMS(50/30 μm 、2 cm, Supelco, 美国);带有MPS多功能自动进样器(MPS2, Gerstel, 德国)的气质联用仪(7890AGC-5973NMS, Agilent, 美国);DB-5MS毛细管色谱柱(30 m \times 0.25 mm \times 0.32 μm , Agilent, 美国);高纯氦气(纯度99.999%)为载气;20 mL顶空样品瓶及瓶盖。

1.3 样品前处理流程

采集的水样先用0.45 μm 水相滤膜过滤,准确量取已过滤水样10 mL,并转移至20 mL顶空瓶中,加入3 g氯化钠使之溶解混合均匀。将顶空样品瓶放到60℃的反应器中,以500 rpm震荡预平衡5 min,推出纤维头,萃取20 min,萃取头在温度为250℃进样口热解析120 s,具体流程如图1所示。

1.4 仪器分析步骤

气相色谱柱流量设为1.0 mL/min。程序升温为:50℃保持2 min,以8℃/min升至160℃,再以20℃/min升至280℃,保持3 min,280℃后运行2 min,共运行30 min。进样口和质谱接口温度分别为250℃和280℃;不分流进样。电子轰击(electron impact, EI)离子源,能量为70 eV,离子源和四级杆温度分别为230℃和150℃;溶剂延迟5 min;选择离子扫描模式(selective ion monitoring, SIM)。各化合物的定量、定性离子如表1所示。

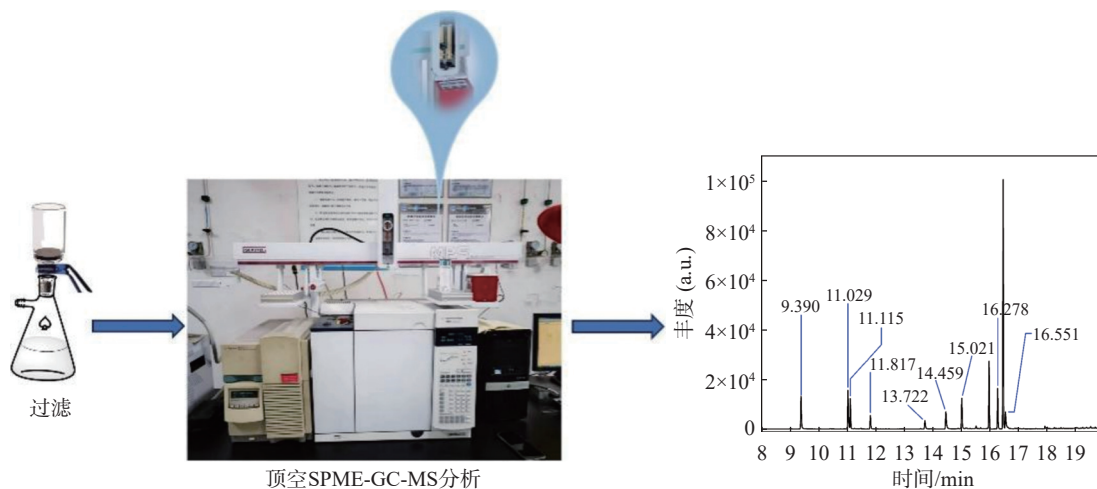


图 1 顶空固相微萃取联合气质联用技术示意图

表 1 化合物的保留时间、定量和定性参数

化合物	英文缩写	保留时间/min	定量离子/(m·z ⁻¹)	定性离子/(m·z ⁻¹)
2-异丙基-3-甲氧基吡嗪	IPMP	9.39	136.7	150.7
2-异丁基-3-甲氧基吡嗪	IBMP	11.03	123.7	150.7
2-甲基异冰片	2-MIB	11.12	94.7	107.3
β-环柠檬醛	β-cyclocitral	11.82	136.7	151.7
2,4,6-三氯苯甲醚	2,4,6-TCA	13.72	209.5	211.4
2,3,6-三氯苯甲醚	2,3,6-TCA	14.46	209.5	211.4
土臭素	Geosmin	15.02	111.5	125.3
β-紫罗兰酮	β-ionone	16.28	177.0	134.9
2,3,4-三氯苯甲醚	2,3,4-TCA	16.55	209.5	211.4

1.5 实验结果与处理

在选择离子监测模式(SIM)下,各臭味物质的色谱如图 2 所示。9 种臭味物质均获得较好的分离度。

9 种臭味物质的标准曲线、相关系数、检测限、加标回收率和相对标准偏差(relative standard deviation, RSD)如表 2 所示,标准曲线的相关系数(R^2)均大于 0.995,方法检出限范围为 0.36~15.50 ng/L,平均加标回收率为 88.7%~98.3%,相对标准偏差(RSD)在 3.6%~8.5% 之间。

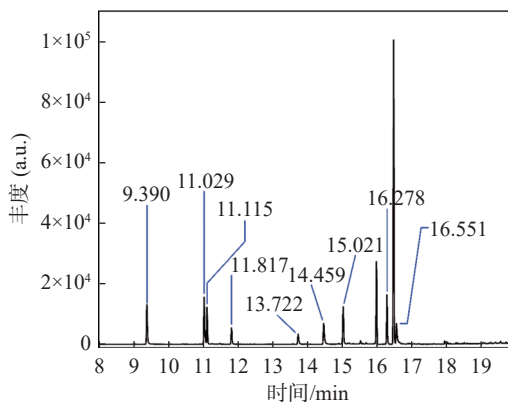


图 2 选择离子监测模式下 9 种臭味物质的色谱图

表 2 9 种臭味物质标准曲线、相关系数、检测限、加标回收和相对标准偏差(n=6)

化合物	回归方程	R^2	检测限/(ng·L ⁻¹)	平均回收率/%	RSD/%
IPMP	$y = 180.8x + 397.5$	0.9996	2.00	95.4	4.5
IBMP	$y = 242.2x + 1388$	0.9997	0.63	93.6	3.6
2-MIB	$y = 131.3x + 1010$	0.9982	0.36	94.2	4.7
β-cyclocitral	$y = 54.47x + 516.0$	0.9999	10.00	93.4	5.4
2,4,6-TCA	$y = 41.68x - 63.59$	0.9995	15.50	98.3	6.4
2,3,6-TCA	$y = 77.47x + 1119$	0.9998	2.78	97.7	8.5
Geosmin	$y = 193.1x + 237.7$	0.9988	2.48	95.5	8.0
β-ionone	$y = 149.5x + 2265$	0.9970	0.93	92.3	6.8
2,3,4-TCA	$y = 60.83x + 131.7$	0.9959	6.29	88.7	6.6

2 教学实施过程

2.1 课前资料调研和实验准备

利用气质联用仪对痕量易挥发有机化合物能够进行定性和定量分析, 但由于环境水体基质复杂且有机化合物含量低, 需要进行提取和富集浓缩处理, 传统的液液提取具有有机溶剂用量大、后续净化和富集步骤繁琐等不足^[11]。随着分子筛、沸石和键合硅胶等填料的出现, 固相萃取技术(solid-phase extraction, SPE)发展为一种稳定的液体样品中有机化合物的提取技术^[12], 但固相萃取仍然需要用到有毒有害的有机溶剂。随着新型纤维材料的发展, 固相微萃取技术(solid-phase micro extraction, SPME)被广泛用于水体中易挥发性有机化合物的分析^[13-14]。在实验开始前, 教师讲授固相微萃取的基本原理和萃取模式, 并通过小组讨论的方式使学生理解水体中痕量污染物前处理的重要性。

目标物的理化性质影响顶空 SPME 萃取的条件, 因此课前由教师布置任务, 让学生分组调研臭味物质的理化性质。由于 9 种臭味物质的极性强弱程度不一, 因此 SPME 纤维头为三合一的 DVB/CAR/PDMS; 同时由于该纤维头的最大工作温度不能超过 250 °C, 因此进样口温度设置为 250 °C; 加之萃取温度影响平衡速率, 学生分组讨论并进行萃取温度优化实验, 研究萃取温度对回收率的影响, 最终获得升高萃取温度将会缩短萃取时间的结论。通过条件优化, 最终选择了萃取温度为 60 °C、萃取时间为 20 min、浓度为 10 ng/L 的 9 种臭味物质混合加标样, 利用 SPME-GC-MS 分析获得较高的峰面积。该环节增强了学生分析问题、解决问题的能力, 同时培养学生的科学探索精神。

2.2 分组实验

为了培养每个同学的动手动脑能力, 全班分为 12 组, 每组 5 人开展实验, 每组实验内容为水样采集、水样过滤和臭味物质的标准曲线配制同时进行, 需要同学配合完成, 增进同学间沟通交流和团队协作精神。萃取条件(如萃取温度和萃取时间)会影响分析物的峰面积, 因此分小组探索实验条件, 结果如图 3 和图 4 所示。由图可见, 在萃取温度 60 °C、萃取时间 20 min 时, 9 种臭味物质峰面积响应最大。

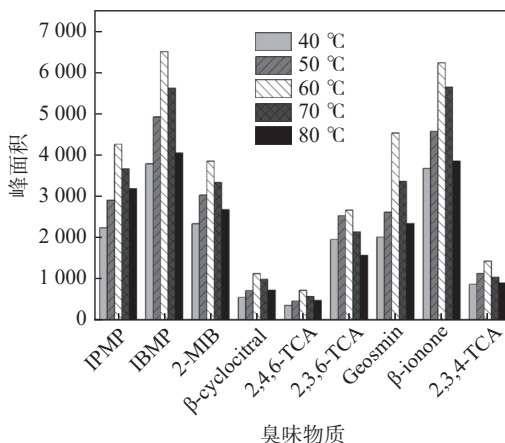


图3 不同萃取温度下9种臭味物质的峰面积

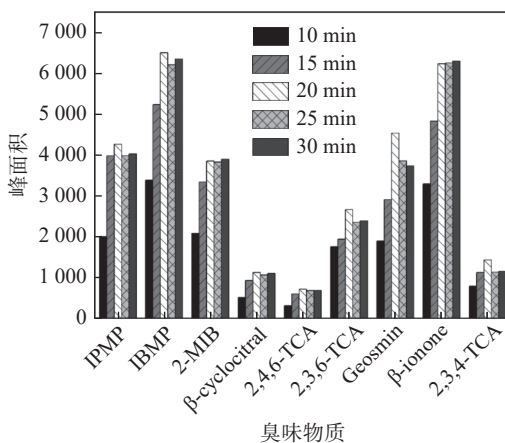


图4 不同萃取时间下9种臭味物质的峰面积

2.3 重视实验控制与保证

为保证监测数据的准确性和稳定性, 开展空白实验、加标回收实验和平行样实验, 实验质量控制与保证的主要实验内容以及判断依据如图 5 所示。

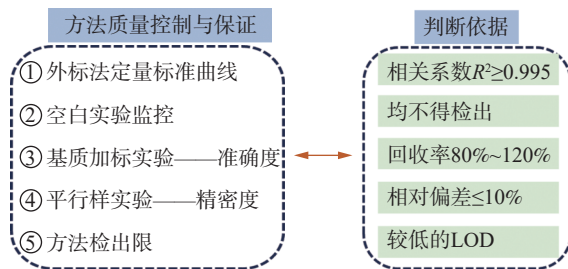


图5 质量控制与保证实验和判断依据图

为消除样品保存和运输过程的污染, 采样时将同批次清洗好的两支棕色采样瓶一起带出, 采样结束带回, 用实验室超纯水冲洗采样瓶; 为消除方法检测过程所用器具和试剂的污染, 进行空白实验, 空白实验结果不得检出; 为保证方法的

准确性进行加标回收实验；一般回收率处于 80%~120%。为保证方法的精密度进行平行样实验，平行样相对偏差不得超过 10%。为了减少学生实验时间，采取序列进样，每 20 个样品为一批处理，中间必须加入一个空白样、一个标样和一个加标回收样以保证仪器分析的准确性。

2.4 加强实验数据分析能力的培养

该实验自动化程度高，节省学生的实验时间。分析程序运行完成后，课后数据分析由教师演示，学生自己动手分析和处理数据。首先，9 种臭味物质定性分析，利用每种臭味物质的单标在全扫描模式下进行色谱图分析，通过与 NIST 谱库比对，确定 9 种臭味物质的分子离子峰和基峰为该物质的定性和定量离子。其次，定量分析方法多用外标法，由 9 种臭味物质的单标配置成一定浓度的混合标准溶液，然后利用 10 mL 容量瓶用超纯水逐级稀释成浓度分别为 0、5、10、20、50、100 ng/L 的混标，每个标样运行 3 针，以浓度为横坐标，峰面积为纵坐标绘制标准曲线。同时根据 5 ng/L 混合标准样品的峰面积响应值，以 3 倍信噪比计算 9 种臭味物质的最低检出限 (limit of detection, LOD)^[15]；平行取 3 份实际水样，分别添加适量的 9 种臭味物质混合标准溶液，添加浓度分别为 5、10、20 ng/L。取 10 mL 加标水样，并用顶空 SPME-GC-MS 进样测试，计算方法的回收率和相对标准偏差，从而培养学生的综合研究能力。

2.5 教师强调实验安全措施

1) 由于臭味物质标准品具有一定挥发性，因此要求配制标准曲线时，尽可能在通风橱内进行，并佩戴口罩；

2) 加强实验室职业防护；

3) 实验结束后，要整理实验台，并将实验产生的固体废弃物如水样过滤后滤膜和一次性注射器均放入危险废物处置箱，增强环境意识；

4) 水样中少量臭味物质挥发进入质谱检测器被电子轰击成碎片离子或分子，但大部分臭味物质仍然存在水体，因此实验后的水样不能随意丢弃，要倒入废液桶，进行后续处置。

2.6 重视学生小组汇报

实验成绩考核除了实验报告，还根据分组进行小组汇报^[16]，考查学生的团队协作能力。如 PPT 汇报时，学生组织分工，PPT 制作、绘图和

PPT 讲解均由同小组同学共同完成。该环节使学生对该实验项目有关知识点的理解更加深入，提升了学生的科研创新能力。

3 结束语

依托国地共建实验室、江苏省环境科学与工程重点实验室，将科研与教学深度融合，对耗时长、步骤繁多、枯燥乏味的实践进行改革。本文利用自动化程度高、综合性强的顶空 SPME-GC-MS 技术测定痕量臭味物质实验项目，能提高学生动手能力、统筹规划能力和综合分析能力，增加学习的积极性和主动性，在后续的科研工作中用到类似仪器时，能更有自信地快速开展工作，提高分析、解决问题和综合研究的能力。

参考文献

- [1] 马达, 朱勇, 张宇, 等. 新工科背景下“现代仪器分析”课程教学改革与实践: 以暨南大学为例[J]. 包装工程, 2021, 42(S1): 202-205.
- [2] 王琳, 管庆, 于永斌, 等. 新工科背景下的“综合设计”课程教改实践[J]. 实验科学与技术, 2021, 19(4): 57-60.
- [3] 孙也, 李梦歆, 蒋焱鑫, 等. 类水滑石衍生物催化臭氧氧化甲苯综合实验设计[J]. 实验科学与技术, 2024, 22(1): 89-94.
- [4] 黄艳萍, 杨博, 刘百仓, 等. 纳米复合膜高效去除有机污染物的实验设计[J]. 实验科学与技术, 2024, 22(2): 87-93.
- [5] 程嘉雯, 马继平, 李爽, 等. 六溴环十二烷的样品前处理和检测方法研究进展[J]. 色谱, 2022, 40(10): 872-881.
- [6] 程嘉雯, 田永, 李春欣, 等. 加速溶剂萃取技术应用于二噁英检测的研究进展[J]. 环境化学, 2021, 40(9): 2736-2746.
- [7] 李冰. 箭型顶空固相微萃取-三重四极杆气质联用测定水中 2 种环状缩醛 (2-EMD、2-EDD)、2-甲基异茨醇和土臭素[J]. 净水技术, 2023, 42(11): 191-199.
- [8] 张永鑫, 仇付国, 王春苗, 等. 顶空固相微萃取-气相色谱三重四极杆串联质谱同时测定饮用水中 9 种嗅味物质[J]. 环境工程学报, 2023, 17(11): 3730-3737.
- [9] 廖蕾, 张晓赞, 徐振秋, 等. 太湖东岸饮用水主要异味物质年变化规律及来源分析[J]. 环境监控与预警, 2017, 9(2): 10-13, 22.
- [10] 李继影, 张晓赞, 徐恒省, 等. 太湖水源水主要异味物质变化规律及来源初探[J]. 环境监测管理与技术, 2016, 28(3): 69-71.
- [11] 邱天, 鲍珊, 姜威龙, 等. 气相色谱-串联质谱法测定人血清中 43 种持久性有机氯污染物[J]. 分析测试学报,

- 2023, 42(7): 775-783.
- [12] 杨锐明. 索氏提取结合固相萃取-气相色谱质谱法测定固定污染源飞灰中多环芳烃类有机污染物[J]. *分析仪器*, 2023(3): 20-25.
- [13] 许红睿, 李凌, 张付刚, 等. 全自动顶空固相微萃取-气相色谱-质谱联用测定生活饮用水中痕量臭味物质[J]. *中国卫生检验杂志*, 2018, 28(18): 2199-2201.
- [14] 康娜, 王正萍, 王红. 顶空-固相微萃取-气质联用测定
- 终端水异味物质[J]. *工业水处理*, 2019, 39(4): 89-92.
- [15] 于开宁, 王润忠, 刘丹丹. 水环境中新污染物快速检测技术研究进展[J]. *岩矿测试*, 2023, 42(6): 1063-1077.
- [16] 胡俊杰, 李衍亮, 廖建波, 等. 案例讨论式教学在“环境监测”课程中的探索与实践[J]. *广东化工*, 2020, 47(19): 217-218.

编辑 葛晋

(上接第71页)

- [5] VAN DEN HEUVEL R H, HECK A J. Native protein mass spectrometry: From intact oligomers to functional machineries[J]. *Current Opinion in Chemical Biology*, 2004, 8(5): 519-526.
- [6] 于春梅, 李远, 韩丽辉. 气相色谱-质谱联用实验教学模式的改革与实践[J]. *中国现代教育装备*, 2022(7): 53-56.
- [7] 朱秀珍, 李晓华. 基于质谱进行低丰度靶向蛋白质定量的实验教学设计[J]. *首都师范大学学报(自然科学版)*, 2022, 43(5): 71-76.
- [8] 侯桂雪, 王全会, 刘斯奇. 多重反应监测(MRM): 靶标蛋白质定量的新方法[J]. *中国科学(化学)*, 2014, 44(5): 746-752.
- [9] 陈溪, 林天野, 薛伟锋, 等. 基于蛋白组学技术对海参样品的研究[J]. *食品安全质量检测学报*, 2019, 10(23): 7869-7874.
- [10] 吴湛霞, 蔡鹰, 李思东. 大型精密仪器设备在本科实验教学中的运用与管理浅谈[J]. *广东化工*, 2019, 46(3): 196-197.
- [11] WU Z B, CHEN S Z, ZHOU M Q, et al. Family-wide characterization of methylated DNA binding ability of Arabidopsis MBDs[J]. *Journal of Molecular Biology*, 2022, 434(2): 167404.
- [12] 郭瑞, 李绍军. p53蛋白的结构与功能及磷酸化修饰的生物学效应研究概述[J]. *生物学教学*, 2020, 45(5): 2-5.
- [13] PAN N, WANG Z W, WANG B, et al. Mapping microproteins and ncRNA-encoded polypeptides in different mouse tissues[J]. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 2021, 9: 687748.
- [14] 刘颖. 高效液相色谱仪与质谱仪在本科教学中的应用[J]. *学园*, 2020, 13(18): 32-33.
- [15] 万建, 汪兵, 周权, 等. 自制核心耗材促进大型仪器设备在实验教学中的应用[J]. *实验室研究与探索*, 2022, 41(1): 162-164.

编辑 葛晋