

静电场轨道阱质谱在水中溶解性 有机质表征中的应用进展

王书越¹⁾, 何洪源^{1)*}, 饶 竹²⁾, 石喆元²⁾,
孟建卫³⁾, 王立平³⁾, 李开开¹⁾

1) 中国人民公安大学侦查学院, 北京 100038;

2) 自然资源部生态地球化学重点实验室, 国家地质实验测试中心, 北京 100037;

3) 河北省矿产资源与生态环境监测重点实验室, 河北保定 071000

摘 要: 溶解性有机质(Dissolved Organic Matter, DOM)在水生生态环境中广泛存在, 影响着水环境中多种物质的生物地球化学性质。分析其组成与含量具有重要的生态环境意义, 是生态环境科学领域研究的热点。溶解性有机质组成非常复杂, 其分子组成的解析一直是难题。近年来, 具有高分辨率、高灵敏度、高通量、高扫描速率等特性的静电场轨道阱质谱技术, 结合计算机编程技术、可视化技术对 DOM 分子组成分布特征进行表征, 可大幅提升对 DOM 的解析能力。本文总结了 DOM 的高分辨质谱数据表达方法, 综述了静电场轨道阱质谱技术的发展及其表征水体中 DOM 的应用现状, 并对未来研究进行展望。

关键词: 静电场轨道阱质谱; 溶解性有机质; 水体; 表征; 应用

中图分类号: X1; O657.6 文献标志码: A doi: 10.3975/cagsb.2021.121301

Progress in the Application of Orbitrap Mass Spectrometry in the Characterization of Dissolved Organic Matter in Water

WANG Shu-yue¹⁾, HE Hong-yuan^{1)*}, RAO Zhu²⁾, SHI Zhe-yuan²⁾,
MENG Jian-wei³⁾, WANG Li-ping³⁾, LI Kai-kai¹⁾

1) School of Investigation, People's Public Security University of China, Beijing 100038;

2) Key Laboratory of Eco-geochemistry, Ministry of Natural Resources, National Research Center for Geoanalysis, Beijing 100037;

3) Hebei Key Laboratory of Mineral Resources and Ecological Environment Monitoring, Baoding, Hebei 071000

Abstract: Dissolved organic matter (DOM) exists widely in the aquatic ecological environment and has a significant influence on the biogeochemical properties of many substances. Its composition and content have important ecological and environmental significance and has been a hot spot in ecological and environmental science research. The composition of DOM is complex, and its molecular composition analysis has always been a challenge. In recent years, Orbitrap mass spectrometry (Orbitrap MS), capable of high resolution, high sensitivity, high throughput, and high scanning rate, combined with computer programming technology and visualization technology could be used to characterize the molecular composition and distribution of DOM, greatly improving the capabilities of DOM. In this paper, the explanation methods of DOM high-resolution MS data are summarized, the Orbitrap MS technology and its application status in characterization of DOM in water are reviewed, and the prospects for future developments are analyzed.

Key words: Orbitrap mass spectrometry (Orbitrap MS); dissolved organic matter (DOM); water; characterization; application

本文由中国地质调查局地质调查项目“重点地区健康地质调查试点”(编号: DD20211414)、“水样测试分析质量控制”(编号: DD20190323)、中央高校基本科研业务费项目(编号: 2021JKF201)和上海市现场物证重点实验室开放课题(编号: 2021XCWZK05)联合资助。

收稿日期: 2021-08-05; 改回日期: 2021-12-09; 网络首发日期: 2021-12-14。责任编辑: 张改侠。

第一作者简介: 王书越, 女, 1996 年生。硕士研究生。刑事科学技术专业, 主要从事地下水溶解性有机质研究。通讯地址: 100038, 北京市西城区中国人民公安大学木樨地校区。E-mail: 835769986@qq.com。

*通讯作者: 何洪源, 女, 1965 年生。博士, 教授。主要从事法庭毒物分析。通讯地址: 100038, 北京西城区木樨地南里甲 1 号中国人民公安大学。E-mail: 13311296819@189.cn。

溶解性有机质(Dissolved Organic Matter, DOM), 是一类组成、结构高度复杂、具有异质性的有机混合物, 广泛存在于各种天然水体中(Hertkorn et al., 2007; Tremblay et al., 2007; 李超群等, 2018; Mangal et al., 2020; Zhang et al., 2021)。DOM 是连接生命形态碳和无机碳的关键纽带, 参与各种生物地球化学循环过程, 被认为是陆地生态系统和水生生态系统中一种重要的活跃化学组分(吴丰昌等, 2008; Melendez-Perez et al., 2016; Fox et al., 2017)。研究表明, DOM 包含上千种化合物, 官能团多、质量范围广, 含量虽少, 却影响着有毒重金属和有机污染物的迁移转化和生物有效性(楼涛等, 2004; Raeke et al., 2017; 谢冰心等, 2020), 引发人类健康风险。DOM 的存在还与一些地方病的发生密不可分, 例如地下水中高腐殖酸会使水溶性硒含量减少, 降低硒的生物利用率(曹静祥等, 1993; 韩立新和曾宪成, 2009), 导致大骨节病的发生(中国科学院地理研究所环境与地方病研究组, 1988; 王婧等, 2020)。此外, 水中富营养化、有毒溶解性有机质混入均可造成水体污染。

虽然 DOM 在生物地球化学作用过程中、在生物有效性、水体安全性等方面具有重要作用, 但由于 DOM 具有组成复杂、含量较低、与水的互溶性强等特征, 常规检测技术难以对其分子组成进行精准解析, 限制了研究人员对 DOM 作用的深入认识。现有 DOM 常规表征技术以光谱技术为主, 包括傅里叶变换红外光谱(Zhang et al., 2009)、紫外-可见吸收光谱(Birdwell et al., 2010; 张博等, 2020)、三维荧光光谱(Riley et al., 2018; 王翔等, 2020; 张博等, 2020)等。这些技术利用 DOM 中不同物质结构、官能团、发色基团、荧光基团各不相同的特性, 揭示了 DOM 主要的化合物类型, 如腐殖酸、富里酸、氨基酸等。但光谱技术只能揭示部分 DOM 的宏观特性, 无法描述其分子组成。

随着质谱技术的发展, 高分辨质谱(High Resolution Mass Spectrometry, HRMS)的分辨率可以达到 100 000 (m/z 400)以上, 能够表征 DOM 的分子组成(Hertkorn et al., 2008; Riedel and Dittmar, 2014), 是解析 DOM 的理想方法。自 1997 年 Fievre et al.(1997)首次采用 HRMS 检测 DOM 以来, 各类高分辨质谱仪检测 DOM 的研究报道大幅增长。傅里叶变换离子回旋共振质谱仪(Fourier Transform Ion Cyclotron Resonance Mass Spectrometry, FT-ICR MS)、静电场轨道阱质谱仪(Orbitrap MS)和飞行时间质谱仪(Time-of-Flight MS, TOF MS)的普及促进了 DOM 解析技术的提升(Cortes-Francisco et al., 2011; Hawkes et al., 2016; Lu et al., 2018; Agui-

lar-Alarcon et al., 2020; Pan et al., 2020)。

FT-ICR MS 技术是表征 DOM 最常用的 HRMS 技术(Kujawinski, 2002; Hertkorn et al., 2007)。由于该仪器体积庞大、操作复杂、仪器及维护成本高, 在一定程度上限制其广泛应用(Zhurov et al., 2013; Simon et al., 2018)。近几年, 研究人员通过探索和实践, 证实了高分辨 Orbitrap MS 能够满足 DOM 分子组成分析的技术需求(Hawkes et al., 2016; Pan et al., 2020)。Orbitrap MS 技术与利用液氮维持超导磁场的 FT-ICR MS 不同, 它使用轴向谐波轨道阱作为质量分析器, 仪器和维护成本相较于 FT-ICR MS 大幅下降(Makarov et al., 2006a, b)。同时兼具高分辨率、高灵敏度、高通量、高扫描速率等特性(Zubarev and Makarov, 2013; 栗则等, 2018), 取得了与 FT-ICR MS 相似的解析效果, 为推动溶解性有机质的精细解析的普及提供了可能。本文总结了 DOM 高分辨质谱数据表达方法, 综述了 Orbitrap MS 技术的发展及其表征水体中 DOM 的应用现状, 并对未来研究进行展望。

1 Orbitrap MS 技术

Orbitrap 质量分析器起源于 1923 年轨道捕获原理的实现(Zubarev and Makarov, 2013)。随后, 弯曲线性阱(C-trap)的发展有效将 Orbitrap 质量分析器与离子源、离子传输装置分离, 使任何离子源和离子传输装置都可以与 Orbitrap 质量分析器相连, 扩大了 Orbitrap MS 的应用范围。如图 1 所示, 在 C-trap 中, 随着离子被捕获, 射频电压迅速下降, 离子在高纯氮气的作用下减速, 同时在垂直于 C-trap 弯曲轴的方向施加直流电压, 使离子聚集压缩到 C-trap 弯曲部分的出口(对着 Orbitrap 质量分析器入口), 被 Orbitrap 质量分析器的电场吸入。当离子进入 Orbitrap 质量分析器时, 通过提升中心电极电压的绝对值增加场强, 产生向心吸引力, 限制离子轴向运动, 而改作圆周运动(Hu et al., 2005)。第一台商用仪器是由 Thermo Electron 公司(现为 Thermo Fisher Scientific 公司)推出的 LTQ Orbitrap Classic; 2008 年, 名为 Exactive 的 Orbitrap 质谱仪建成, 其离子源直接与 C-trap 相连; 2011 年, 该仪器与四极杆质量分析器相结合, 并以 Q Exactive 的名称推出, 从此这类先进的 Orbitrap 质谱仪逐渐在高通量筛查方面流行起来(Zubarev and Makarov, 2013)。Q Exactive Orbitrap MS 的结构如图 2 所示。

自 2005 年 Orbitrap MS 商业化以来, 其分辨率从原来的 150 000 提高到 450 000 (m/z 200), 可满足表征 DOM 的要求(Hu et al., 2005; Zhurov et al., 2013; Zubarev and Makarov, 2013)。研发人员还在

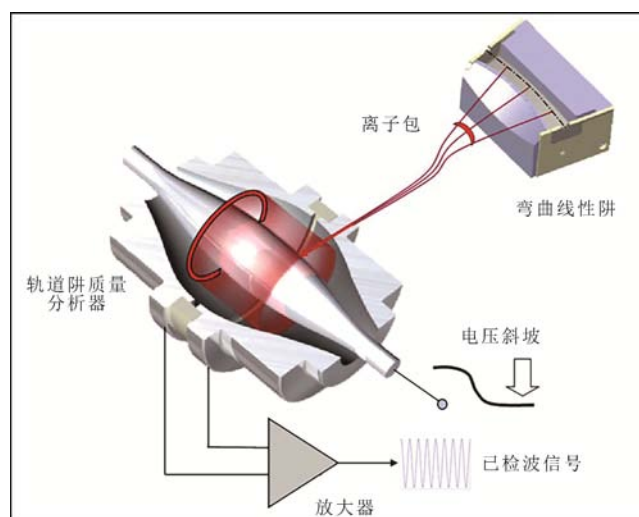


图 1 C-trap 和 Orbitrap 质量分析器的横截面(Zubarev and Makarov, 2013)
Fig. 1 Cross-section of the C-trap and Orbitrap analyzer (Zubarev and Makarov, 2013)

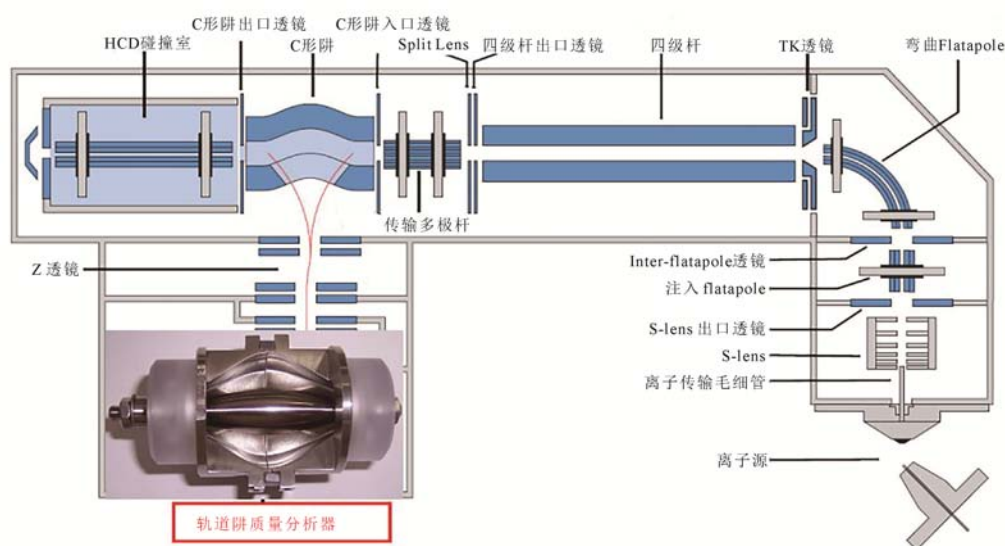


图 2 Q Exactive Orbitrap MS 的结构图
Fig. 2 Structure of Q Exactive Orbitrap MS

C-trap 之后增加一个碰撞单元, 开辟了利用高能碰撞裂解离子的新途径(Zubarev and Makarov, 2013)。该裂解模式与传统的碰撞诱导解离一样, 可用于解析 DOM 的具体分子结构。此外, Orbitrap MS 在表征低分子量(Low Molecular Weight, LMW)化合物方面表现出优越的能力, 已被用于表征各种来源的 DOM(Cortes-Francisco and Caixach, 2013; Mangal et al., 2016; Phungsai et al., 2016)。同时, 高扫描速率能使其与液相色谱串联, 从而实现在线分离和表征 DOM(Patriarca et al., 2018)。

2 Orbitrap MS 技术对水体中 DOM 的表征

2.1 Orbitrap MS 数据表达

采用 Orbitrap MS 技术对水体中 DOM 分析会产生数千个质量峰, 为简化数据和直观表达 DOM 的分子组成, 通常进行分子式分配和可视化分析。

2.1.1 分子式分配

分子式分配是指计算机程序根据预定义的化学约束条件, 对每个检测到的质量峰计算其可行的元素组成。Koch et al.(2007)解释了利用高分辨质谱数据对 SRFA 标样中 DOM 进行分子式分配的基本原理, 并表明随着质量增加, 如果将无氧杂原子加入计算, 分配的分子式数量会急剧增加。Herzprung et al.(2014)从化学角度提出了一种解释和改进分子式分配的新方法, 首先在标称质量内搜索质量峰的多个分子式并分组(如 CHO/CHON₂), 然后分析它们的等效双键数减氧原子(DBE-O)的频率条形图, 该方法的主要优点是可以同时对多个 m/z 值进行分组分配。目前, 常用的分配规则包括设置响应值的最低限, C、H、O、N、S 等元素个数和元素比例的范围, 以及出现多个候选分子式时如何确定最优解。

随着研究的深入, 基于复杂搜索算法的分子式分配自编软件报道越来越多(Fu et al., 2020)。除了商业软件(如 PetroOrg (Blackburn et al., 2017)、MIDAS 分析(Cook et al., 2017)等), 还有仪器自带的软件(如 MassCalc (Yassine et al., 2014))和自动代码(如 UltraMassExplorer (Leefmann et al., 2019)、WHOI 代码(Kujawinski and Behn, 2006)等)已被开发并用于高通量分子式分配。最近, Fu et al.(2020)开发了两个开源性算法(TRFu 和 FuJHA), 将不同来源 DOM 的多个高分辨质谱数据进行自动分子式分配, 经过准确性评估, 该算法可有效得出分子式。

2.1.2 可视化方法

常用的 DOM 分子组成可视化方法有范克莱恩图(Van Krevelen Diagram, VK 图), 肯德里克质量偏差图(Kendrick mass defect plot, KMD 图), DBE vs C 图和 DBE vs O 图等。

VK 图是对元素数据(C、H、N 和 O)进行图形化和统计化处理的方法, 最常见的是根据每个化合物分子式的 O/C 和 H/C 比值绘制的二维图。2003 年, Kim et al.(2003)首次将该方法用于水中 DOM 分子组成的可视化分析。由于自然生物分子具有相对统一和离散的元素组成, 因此不同类型的分子可通过其 O/C 和 H/C 比值的某种组合来进行分类。目前, 常采用 Hockaday et al.(2009)研究的分区方法对水中 DOM 的分子组成进行分类, 包括脂类, 不饱和烃类, 稠环芳烃类, 蛋白类, 木质素类和碳水化合物类。

Kendrick 质量偏差分析是同源化合物对复杂质谱中的峰进行分类, 已成功应用于高分辨质谱数据(Kendrick, 1963)。对于结构单元一致(如 CH_2 , COOH , CH_2O 等)而质量不同的化合物组成(结构单元呈整数倍关系), 可以通过二维图像呈现, 即 KMD 图。由于同源相关的化合物位于同一纵坐标值的水平线上, 因此可以直观了解 DOM 中化合物的类型及其分子量分布范围。在 KMD 图中, 横坐标为 Kendrick 质量(Kendrick Mass), 纵坐标为 Kendrick 质量偏差(Kendrick Mass Defect, KMD), 相关计算公式如下:

$$\text{Kendrick质量} = \text{化合物实际分子质量} \times \frac{\text{F的标称分子质量}}{\text{F的精确分子质量}} \quad (1)$$

$$\text{Kendrick质量偏差} = |\text{化合物标称分子质量} - \text{化合物Kendrick质量}| \quad (2)$$

(1)式中, F 为结构单元, 可以是 CH_2 , COO , H_2 , H_2O 等。

等效双键数(Double Bond Equivalent, DBE)代表化合物的不饱和度, 通过表观 DBE 与 C 的关系或 DBE 与 O 的关系, 可以补充对 DOM 分子组成的认

识和理解。此外, 其他可视化方法也可以为更全面解析 DOM 的分子组成提供参考。

2.2 水体中 DOM 分子组成的表征

近年来, 采用 Orbitrap MS 技术表征水体中 DOM 分子组成的报道逐年增多。研究人员在探究 Orbitrap MS 表征 DOM 分子组成方面主要集中在表征方法的准确性、重现性和代表性等问题。Remucal et al.(2012)首先采用截留分子量在 100~500 之间的透析膜对 Suwannee 河黄腐酸(Suwannee River Fulvic Acid, SRFA)标样进行透析, 再用紫外-可见吸收光谱和 Orbitrap MS 对透析液和保留液进行分析。通过与 FT-ICR MS 的分析结果进行比较, Orbitrap MS 的质量精度满足检测复杂混合物中质量 <600 Da 化合物分子式的需要, 当分子量在 100~200 Da 时 Orbitrap MS 仪器响应最强。同时, 该研究证实 SRFA 中包含低分子量化合物。Hawkes et al.(2016)采用 LTQ-Orbitrap MS 技术表征北太平洋海水样本和瑞典 Plåten 湖水样本中的 DOM, 就检测的分辨率、数据获取时间、分子质量分布和结果重现性等方面与 FT-ICR MS 进行了比较。结果表明 Orbitrap MS 重现性好, 平行样本间 Bray Curtis 相异度为 $2.85 \pm 0.42\%$ (平均 $\pm$ 标准偏差)。随后, Hawkes 联合了各国的科研组(2020)考察了不同实验室间使用不同 HRMS 检测结果之间的差异。该实验采用了统一制备的 4 种 DOM 参考样本, 即 SRFA、Suwannee 河天然有机物(Suwannee River Natural Organic Matter, SRNOM)、Pony 湖黄腐酸(Pony Lake Fulvic Acid, PLFA)和 Elliot 土壤黄腐酸(Elliot Soil Fulvic Acid, ESFA), 分别在 16 个实验室共 17 台 HRMS 仪(其中包括 7 台 Orbitrap MS 仪)上进行检测。结果发现, 不同仪器检测出 DOM 的氢饱和度和芳香度基本一致, 而平均分子质量和氧含量受仪器类型和参数设置的影响较大。最终, 研究人员针对四种样本提出了四个不同参数的度量值, 以便用于评估 HRMS 的仪器性能。2020 年, Pan et al.(2020)针对 SRFA 和 SRNOM 样本, 将 Orbitrap MS 与 FT-ICR MS 在分辨率、质量分布、检测动态范围和同位素峰强度比等方面进行了全面的比较, 同时考察了不同质谱参数对检测结果的影响。结果表明, 高分辨 Orbitrap MS 是一种很好的 DOM 分子组成表征技术。

除了考察 Orbitrap MS 表征 DOM 标样分子组成的能力, 研究人员还对不同的实际水体样本进行了检测。Cortes-Francisco and Caixach(2015)采用 Orbitrap MS 对西班牙巴塞罗那海岸收集的海水中 DOM 进行了碰撞诱导解离高分辨串联质谱分析,

通过对其单个产物离子质谱重构, 将多个片段划分到不同的前体离子上, 表明存在羧基、羟基、醌类和脂类, 并且结构与木质素类降解分子相似。该结果证实了海水中 DOM 具有高度多样性的官能团。李利杰等(2019)采用 Orbitrap MS/MS 分析得出了 SRFA、不同陆源水体、近海海水和深海海水的串联质谱碎片, 结果表明, 不同水体中 DOM 分子结构具有相似性, 约 75%~90% 的碎片离子相同, 而差异性主要是因为不同来源的 DOM 分子组成不同。Kasuga et al.(2020)采用 Orbitrap MS 对日本 11 个主要湖泊中的 DOM 进行了表征, 经分子式分配, 得到了 845~1451 种化合物组分, 其中 555 种组分在所有湖泊中普遍存在。同时利用皮尔逊相关性探究了这些共同组分的相对峰强度与水质指标(紫外吸光度、可溶化学需氧量、三卤甲烷生成势)之间的关系, 为水质管理提供信息。

由于 DOM 的组成非常复杂, 直接采用 HRMS 分析会导致许多化合物同时电离, 形成电离抑制, 使得质谱数据中同分异构体的信息被覆盖, 无法分辨是哪种化合物产生了响应。为了更全面表征水体 DOM 的分子组成, 近几年, 研究人员将高效液相色谱(High Performance Liquid Chromatography, HPLC)与 Orbitrap MS 结合, 在质谱分析前先通过化合物极性的差异对 DOM 进行色谱分离, 该方法大大提高了解析 DOM 分子组成的水平。Patriarca et al.(2018)开发了一种在线 HPLC-Orbitrap MS 表征 DOM 的新方法, 将每个样本的色谱分成 7 段(每 4 分钟为一段, 第一段为 3 分钟), 该方法简单、快速、重现性好(Bray-Curtis 相异度在 2.5% 左右), 总体上分配了更多的分子式。与直接注入质谱分析相比, 该方法增加了极性信息, 但没有增加太多的分析时间。将该方法应用于北太平洋的海水样本、瑞典某个湖水样本和 SRFA, 提升了原有的分析能力。Wunsch and Hawkes(2020)将平行因子分析(PARAFAC)等化学计量学方法应用于瑞典东南方 74 个河流样本的 HPLC-Orbitrap MS 检测得到的 DOM 数据集, 将该数据集包含的 7178 个质量峰和分配的 1355 个分子式, 根据保留时间分成五组, 表达了 96.89% 的数据, 其余的变化由矩阵效应和测量噪声构成。之后, 采用 PARAFAC 对共洗脱的分子进行区分。本研究将色谱分离与化学计量学方法结合, 虽然引入了额外的数据分析步骤, 但提供了更好的信息恢复, 并最大限度地提高了 HPLC-HRMS 分析的潜力。Farré et al.(2019)采用 LTQ-Orbitrap MS 对不同来源的饮用水进行直接输入和色谱分离分析, 研究 N-亚硝基二甲胺(NDMA)的形成与 DOM 分子指纹图谱的关系。结果表明, 与 NDMA

的形成呈正相关的化合物主要对应于 VK 图中脂肪族、肽类和类脂类化合物($H/C \geq 1.5$)的区域。本研究中, 尽管色谱分离不能更好地定义 NDMA 的前体, 因为它们存在于色谱图的不同馏分中, 但所提出的方法有助于缩小通过非目标分析寻找天然存在的 NDMA 前体的范围。

2.3 水体中 DOM 分子组成变化的表征

水体中 DOM 分子组成的变化反映了水体中元素的生物地球化学特征, 掌握 DOM 分子组成变化是了解水域生态系统信息的关键。研究表明, DOM 对饮用水的净化处理过程可造成某些不利影响, 如可降低水质, 增加对混凝剂、氧化剂和消毒剂的使用需求等。DOM 还被认为是一种有机前体, 可导致臭氧化过程中氧化副产物(Oxidation Byproducts, OBPs)和氯化过程中消毒副产物(Disinfection Byproducts, DBPs)的产生, 对人体产生危害。为监测 DOM 分子组成的动态变化, 对饮用水净化过程提供指导建议, 目前, Orbitrap MS 技术在表征水体中 DOM 分子变化的应用主要集中在对饮用水库或污水处理厂水体的研究。

2018 年, Phungsai et al.(2018)采用 Orbitrap MS 未知物筛查方法, 对两个饮用水处理厂在水处理过程中 DOM 的分子组成进行了研究。结果表明, 臭氧反应对 DOM 分子组成影响最大, 臭氧处理降低了低饱和含 CHO 类 DOM 的峰强, 增加了饱和 OBPs 的峰强和数量。经氯化处理后, 检测到 50 多个 DBPs, 其中至少一半是未知的。2019 年, 该研究组(Phungsai et al., 2019)采用 Orbitrap MS 未知物筛查方法, 研究了近千种 DOM 分子组成在氧化过程中($1 \text{ mg O}_3/\text{L}$ 、 $4 \text{ mg O}_3/\text{L}$ 和 $4 \text{ mg O}_3/\text{L} + 2.5 \text{ mg H}_2\text{O}_2/\text{L}$)的变化, 并探究了氯化过程对未知 DBPs 形成的影响。结果表明, 臭氧处理增加了未知 DBPs 的数量和峰强度, 而 $\text{O}_3/\text{H}_2\text{O}_2$ 高级氧化处理减少了未知 DBPs 的生成; 其次, 不同臭氧处理会生成不同的未知 DBPs。2021 年, 该研究组(Phungsai et al., 2021)在先前研究的基础上, 又采用三种不同的固相萃取柱对饮用水进行连续前处理, 提供了之前未解析的 DOM 分子组成及变化。在 DBPs 前体物质的研究工作中, Sanchis et al.(2020)采用 Orbitrap MS 分析了巴塞罗那流域水体氯化后 DOM 分子组成的变化。结果表明, 氯化处理显著改变了 DOM 分子组成, 质谱平均 m/z 和肯德里克质量缺陷均降低, DOM 分子指纹图谱(VK 图)有明显变化, 其中包括低 H/C 特征的出现, 大部分脂类特征的消失, 丹宁区高氧化峰(平均 O/C 为 $0.78 \sim 0.08$)的出现等。同时, 在样本氯化过程中产生了 657 个卤化峰, 大部分在 VK 图的类烃缩合区和类木质素区, 有 200 个特征与 DBPs

的形成高度相关($p \geq 0.795$)。

人类活动也是引起水体 DOM 分子组成发生变化的重要因素之一, Pemberton et al.(2020)采用固相萃取从河流和处理过的污水中提取 DOM, 并采用 DI-Orbitrap MS 和 HPLC-Orbitrap MS 进行分析。对获得的数据进行单变量和多变量统计分析, 从而对比排污口上游河流和下游河流中 DOM 的差异。结果表明, 下游水与排污口废水中 DOM 分子组成相似, 与上游水中 DOM 有明显差异, 证实了人类活动所排放的物质可以显著改变河流 DOM 的分子组成。另外, 通过在线数据库检索二级质谱, 对主要化合物进行了鉴定, 为人类源化合物的鉴定提供了依据。该方法对评估河流系统中任何点源的 DOM 分子组成差异, 或由生物、季节、人类活动等外界环境改变导致的 DOM 分子组成差异方面具有重要的价值。近年来, 快速城市化导致封闭水体的有机污染, 加速水体富营养化。Yuthawong et al.(2020)采用 Orbitrap MS 测定了日本污染最严重、富营养化程度高的 Inba 湖中低分子量 DOM 的分子组成。通过一年的监测表明, 该湖泊中 DOM 由稳定成分和季节特异性成分组成。同时, 湖泊中检测到的 DOM 组分与两条入流河流中检测到的组分基本一致, 表明异源组分的季节变化可以驱动浅水湖泊中 DOM 组分的变化。此外, 将高锰酸钾预处理与 Orbitrap MS 结合, 结果表明, 溶解性化学需氧量(DCOD_{Mn})仅由少量高度不饱和的成分构成, 揭示了富营养化湖泊中 DOM 的分子组成。

由于 DOM 参与水生生态系统的众多物理、化学、生物反应, 通过 Orbitrap MS 表征水体中 DOM 分子组成的变化, 可以间接了解水体状态, 例如, 通过表征水体富营养化背景下藻华爆发-消退周期的 DOM 分子组成变化, 有助于对水体富营养化进行控制与治理; 表征污水排放前后水体 DOM 分子组成变化, 有助于了解点源输入对水体造成的影响; 表征多级饮用水处理时 DOM 分子组成变化, 有助于评价饮用水处理工艺效果等。因此, 针对水体中 DOM 复杂的分子组成和变化, Orbitrap MS 可以一定程度上进行解析, 但更为详细的分子结构、具体发生反应的分子特征等信息还有待进一步研究。

3 总结和展望

本文综述了 Orbitrap MS 技术及其在水体中 DOM 表征中的应用现状。Orbitrap MS 灵敏度高、通量大、操作简单、维护成本低, 通过与 FT-ICR MS 分析 DOM 的结果进行比较, 证实了高分辨 Orbitrap MS 能够满足 DOM 分子组成分析的技术需求。但不同实验室对水体中 DOM 分析的过程(前处理方法、

仪器参数设置和数据分析)差异较大, 难以形成标准化; 而且采用高分辨质谱得到的 DOM 数据信息量大, 目前没有统一的方法进行数据处理; 同时现有的高分辨 Orbitrap MS 应用范围窄, 限制了其快速发展。因此, 在未来的研究工作中还应不断挖掘和完善更多功能, 一是针对相同的样本, 建立普适的分析标准, 包括样本处理和制备、电离、参数设置、方法验证等; 二是针对大批量样本, 可充分利用重复样本、空白样本和质量控制, 始终监测参考样本信号的漂移以减少误差; 三是开发标准化数据处理软件, 包括扣除背景噪声、筛除无关离子、分子式分配、可视化分析等方法, 实现快速、大批量数据处理; 四是推广并应用具有高分辨软件的 Orbitrap MS 仪, 扩大高分辨 Orbitrap MS 的应用范围, 更全面的解析水体中 DOM 分子组成及分子变化, 为水质检测提供更完善的依据。此外, 还应进一步探究 DOM 与有毒金属、有机污染物、微量元素(如硒、砷)等物质之间的相互作用机理, 并评估对人体健康产生的风险, 为环境污染与治理提供技术支撑。

Acknowledgements:

This study was supported by China Geological Survey (Nos. DD20211414 and DD20190323), Fundamental Research Funds for the Central Universities (No. 2021JKF201), and Opening Project of Shanghai Key Laboratory of Criminal Scene Evidence (No. 2021XCWZK05).

参考文献:

- 曹静祥, 孙淑庄, 龙凌燕. 1993. 土壤 pH 与腐殖质对水溶性硒影响的研究[J]. 中国地方病防治杂志, 4(2): 74-75, 77, 127.
- 韩立新, 曾完成. 2009. 腐植酸与硒[J]. 腐植酸, 4(5): 42-44, 52.
- 李超群, 刘立平, 郭斌, 赵锦华, 任颖俊, 肖志勇. 2018. 土壤有机质分析技术和应用[J]. 农业科学, 8(6): 635-644.
- 李利杰. 2019. 天然水体可溶有机质分子组成与分子结构分析方法与应用[D]. 北京: 中国石油大学.
- 栗则, 吴百春, 张晓飞, 李兴春. 2018. 静电场轨道阱质谱在水质污染物检测中的应用[J]. 分析试验室, 37(2): 217-221.
- 楼涛, 陈国华, 谢会祥, 张永. 2004. 腐植质与有机污染物作用研究进展[J]. 海洋环境科学, 4(3): 71-76.
- 王翔, 罗艳丽, 邓雯文, 戴志鹏. 2020. 新疆奎屯地区高砷地下水 DOM 三维荧光特征[J]. 中国环境科学, 40(11): 4974-4981.
- 王婧, 李海蓉, 杨林生. 2020. 青藏高原大骨节病流行区环境、食物及人群硒水平研究[J]. 地理科学进展, 39(10): 1677-1686.
- 吴丰昌, 王立英, 黎文, 张润宇, 傅平青, 廖海清, 白英臣, 郭建阳, 王静. 2008. 天然有机质及其在地表环境中的重要性[J]. 湖泊科学, 4(1): 1-12.

- 谢冰心, 王姝, 孙辉, 陈玉雯, 范诗雨, 李鑫. 2020. 溶解性有机质对持久性有机污染物环境行为的影响研究进展[J]. 环境污染与防治, 42(12): 1563-1568.
- 张博, 高建文, 范绍锦, 王书航, 郑朔方, 姜霞. 2020. 南湖水系溶解性有机质来源及时空分布特征[J]. 环境工程技术学报, 10(6): 912-919.
- 中国科学院地理研究所环境与地方病研究组. 1988. 我国低硒带和克山病、大骨节病病因研究[J]. 中国科学院院刊, 4(1): 54-60.

References:

- AGUILAR-ALARCÓN P, GONZALEZ S V, SIMONSEN M A, BORRERO-SANTIAGO A R, SANCHÍS J, MERIAC A, KOLAREVIC J, ASIMAKOPOULOS A G, MIKKELSEN Ø. 2020. Characterizing changes of dissolved organic matter composition with the use of distinct feeds in recirculating aquaculture systems via high-resolution mass spectrometry[J]. *Science of the Total Environment*, 749: 142326.
- BIRDWELL J E, ENGEL A S. 2010. Characterization of dissolved organic matter in cave and spring waters using UV-Vis absorbance and fluorescence spectroscopy[J]. *Organic Geochemistry*, 41(3): 270-280.
- BLACKBURN J W T, KEW W, GRAHAM M C, UHRÍN D. 2017. Laser desorption/ionization coupled to FTICR mass spectrometry for studies of natural organic matter[J]. *Analytical Chemistry*, 89(8): 4382-4386.
- CAO Jing-xiang, SUN Shu-zhuang, LONG Ling-yan. 1993. The effect of pH of soil and humus on the water soluble selenate[J]. *Chinese Journal of Control of Endemic Disease*, 4(2): 74-75, 77, 127(in Chinese with English abstract).
- COOK R D, LIN Y H, PENG Z Y, BOONE E, CHU R K, DUKETT J E, GUNSCH M J, ZHANG W L, TOLIC N, LASKIN A, PRATT K A. 2017. Biogenic, urban, and wildfire influences on the molecular composition of dissolved organic compounds in cloud water[J]. *Atmospheric Chemistry and Physics*, 17(24): 15167-15180.
- CORTÉS-FRANCISCO N, CAIXACH J. 2013. Molecular characterization of dissolved organic matter through a desalination process by high resolution mass spectrometry[J]. *Environmental Science & Technology*, 47(17): 9619-9627.
- CORTÉS-FRANCISCO N, CAIXACH J. 2015. Fragmentation studies for the structural characterization of marine dissolved organic matter[J]. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 407(9): 2455-2462.
- CORTÉS-FRANCISCO N, FLORES C, MOYANO E, CAIXACH J. 2011. Accurate mass measurements and ultrahigh-resolution: evaluation of different mass spectrometers for daily routine analysis of small molecules in negative electrospray ionization mode[J]. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 400(10): 3595-3606.
- RESEARCH TEAM OF ENVIRONMENTAL AND ENDEMIC DISEASES, INSTITUTE OF GEOGRAPHY, CHINESE ACADEMY OF SCIENCES. 1988. Study on the low selenium band and etiology of Keshan disease and Kashin-Beck disease in China[J]. *Bulletin of the Chinese Academy of Sciences*, 4(1): 54-60(in Chinese).
- FARRÉ M J, JAÉN-GIL A, HAWKES J, PETROVIC M, CATALÁN N. 2019. Orbitrap molecular fingerprint of dissolved organic matter in natural waters and its relationship with NDMA formation potential[J]. *Science of the Total Environment*, 670: 1019-1027.
- FIEVRE A, SOLOUKI T, MARSHALL A G, COOPER W T. 1997. High-resolution fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry of humic and fulvic acids by laser desorption/ionization and electrospray ionization[J]. *Energy & Fuels*, 11(3): 554-560.
- FOX P M, NICO P S, TFAILY M M, HECKMAN K, DAVIS J A. 2017. Characterization of natural organic matter in low-carbon sediments: Extraction and analytical approaches[J]. *Organic Geochemistry*, 114: 12-22.
- FU Q L, FUJII M, RIEDEL T. 2020. Development and comparison of formula assignment algorithms for ultrahigh-resolution mass spectra of natural organic matter[J]. *Analytica Chimica Acta*, 1125: 247-257.
- HAN Li-xin, ZENG Xian-cheng. 2009. Humus and selenium[J]. *Humic Acid*, 4(5): 42-44+52(in Chinese).
- HAWKES J A, D'ANDRILLI J, AGAR J N, BARROW M P, BERG S M, CATALÁN N, CHEN H M, CHU R K, COLE R B, DITTMAR T, GAVARD R, GLEIXNER G, HATCHER P G, HE C, HESS N J, HUTCHINS R H S, IJAZ A, JONES H E, KEW W, KHAKSARI M, LOZANO D C P, LV J T, MAZZOLENI L R, NORIEGA-ORTEGA B E, OSTERHOLZ H, RADOMAN N, REMUCAL C K, SCHMITT N D, SCHUM S K, SHI Q, SIMON C, SINGER G, SLEIGHTER R L, STUBBINS A, THOMAS M J, TOLIC N, ZHANG S Z, ZITO P, PODGORSKI D C. 2020. An international laboratory comparison of dissolved organic matter composition by high resolution mass spectrometry: Are we getting the same answer?[J]. *Limnology and Oceanography: Methods*, 18(6): 235-258.
- HAWKES J A, DITTMAR T, PATRIARCA C, TRANVIK L, BERQUIST J. 2016. Evaluation of the orbitrap mass spectrometer for the molecular fingerprinting analysis of natural dissolved organic matter[J]. *Analytical Chemistry*, 88(15): 7698-7704.
- HERTKORN N, FROMMBERGER M, WITT M, KOAH B P, SCHMITT-KOPPLIN P, PERDUE E M. 2008. Natural organic matter and the event horizon of mass spectrometry[J]. *Analytical chemistry*, 80(23): 8908-8919.
- HERTKORN N, RUECKER C, MERINGER M, GUGISCH R, FROMMBERGER M, PERDUE E M, WITT M, SCHMITT-KOPPLIN P. 2007. High-precision frequency measurements: indispensable tools at the core of the molecular-level analysis of complex systems[J]. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 389(5): 1311-1327.

- HERZSPRUNG P, HERTKORN N, VON TÜMPLING W, HARIR M, FRIESE K, SCHMITT-KOPPLIN P. 2014. Understanding molecular formula assignment of Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry data of natural organic matter from a chemical point of view[J]. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 406(30): 7977-7987.
- HOCKADAY W C, PURCELL J M, MARSHALL A G, BALDOCK J A, HATCHER P G. 2009. Electrospray and photoionization mass spectrometry for the characterization of organic matter in natural waters: a qualitative assessment[J]. *Limnology and Oceanography: Methods*, 7(1): 81-95.
- HU Q Z, NOLL R J, LI H Y, MAKAROV A, HARDMAN M, COOKS R G. 2005. The Orbitrap: a new mass spectrometer[J]. *Journal of Mass Spectrom*, 40(4): 430-443.
- KASUGA I, YUTHAWONG V, KURISU F, FURUMAI H. 2020. Molecular-level comparison of dissolved organic matter in 11 major lakes in Japan by Orbitrap mass spectrometry[J]. *Water Supply*, 20(4): 1271-1280.
- KENDRICK E. 1963. A Mass Scale Based on CH₂= 14.0000 for High Resolution Mass Spectrometry of Organic Compounds[J]. *Analytical Chemistry*, 35(13): 2146-2154.
- KIM S, KRAMER R W, HATCHER P G. 2003. Graphical method for analysis of ultrahigh-resolution broadband mass spectra of natural organic matter, the van Krevelen diagram[J]. *Analytical chemistry*, 75(20): 5336-5344.
- KOCH B P, DITTMAR T, WITT M, KATTNER G. 2007. Fundamentals of molecular formula assignment to ultrahigh resolution mass data of natural organic matter[J]. *Analytical Chemistry*, 79(4): 1758-1763.
- KUJAWINSKI E B. 2002. Electrospray ionization Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry (ESI FT-ICR MS): characterization of complex environmental mixtures[J]. *Environmental Forensics*, 3(3-4): 207-216.
- KUJAWINSKI E B, BEHN M D. 2006. Automated analysis of electrospray ionization Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectra of natural organic matter[J]. *Analytical chemistry*, 78(13): 4363-4373.
- LEEFMANN T, FRICKENHAUS S, KOCH B P. 2019. UltraMassExplorer: a browser-based application for the evaluation of high-resolution mass spectrometric data[J]. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 33(2): 193-202.
- LI Chao-qun, LIU Li-ping, GUO Bin, ZHAO Jin-hua, REN Ying-jun, XIAO Zhi-yong. 2018. Technique and application for determinaton of soil organic matter[J]. *Hans Journal of Agricultural Science*, 8(6): 635-644(in Chinese with English abstract).
- LI Li-jie. 2019. Molecular composition and structure analysis of dissolved organic matter in natural water: Methodology and application[D]. Beijing: China Uniersity of Petroleum(in Chinese with English abstract).
- LI Ze, WU Bai-chun, ZHANG Xiao-fei, LI Xing-chun. 2018. The application of orbitrap mass spectrometry in organic water pollutants analysis[J]. *Chinese Journal Analysis Laboratory*, 37(2): 217-221(in Chinese with English abstract).
- LOU Tao, CHEN Guo-hua, XIE Hui-xiang, ZHANG Yong. 2004. Advances of the act of humic substance with the organic pollutants[J]. *Marine Environmental Science*, 4(3): 71-76(in Chinese with English abstract).
- LU K J, GARDNER W S, LIU Z F. 2018. Molecular structure characterization of riverine and coastal dissolved organic matter with ion mobility quadrupole time-of-flight LCMS (IM Q-TOF LCMS)[J]. *Environmental Science & Technology*, 52(13): 7182-7191.
- MAKAROV A, DENISOV E, KHOLOMEEV A, BALSCHUN W, LANGE O, STRUPAT K, HORNING S. 2006. Performance evaluation of a hybrid linear ion trap/orbitrap mass spectrometer[J]. *Analytical chemistry*, 78(7): 2113-2120.
- MAKAROV A, DENISOV E, LANGE O, HORNING S. 2006. Dynamic range of mass accuracy in LTQ Orbitrap hybrid mass spectrometer[J]. *Journal of the American Society for Mass Spectrometry*, 17(7): 977-982.
- MANGAL V, DEGASPARRO S, BERESFORD D V, GUÉGUEN C. 2020. Linking molecular and optical properties of dissolved organic matter across a soil-water interface on Akimi-ski Island (Nunavut, Canada)[J]. *Science of the Total Environment*, 704: 135415.
- MANGAL V, STOCK N L, GUÉGUEN C. 2016. Molecular characterization of phytoplankton dissolved organic matter (DOM) and sulfur components using high resolution Orbitrap mass spectrometry[J]. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 408(7): 1891-1900.
- MELENDEZ-PEREZ J J, MARTÍNEZ-MEJÍA M J, AWAN A T, FADINI P S, MOZETO A A, EBERLIN M N. 2016. Characterization and comparison of riverine, lacustrine, marine and estuarine dissolved organic matter by ultra-high resolution and accuracy Fourier transform mass spectrometry[J]. *Organic Geochemistry*, 101: 99-107.
- PAN Q, ZHUO X C, HE C, ZHANG Y H, SHI Q. 2020. Validation and evaluation of high-resolution orbitrap mass spectrometry on molecular characterization of dissolved organic matter[J]. *ACS Omega*, 5(10): 5372-5379.
- PATRIARCA C, BERGQUIST J, SJÖBERG P J R, TRANVIK L, HAWKES J A. 2018. Online HPLC-ESI-HRMS method for the analysis and comparison of different dissolved organic matter samples[J]. *Environmental Science & Technology*, 52(4): 2091-2099.
- PEMBERTON J A, LLOYD C E M, ARTHUR C J, JOHNES P J, DICKINSON M, CHARLTON A J, EVERSLED R P. 2020. Untargeted characterisation of dissolved organic matter contributions to rivers from anthropogenic point sources using direct-infusion and high-performance liquid chromatography/Orbitrap mass spectrometry[J]. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 34(S4): e8618.
- PHUNGSAI P, KURISU F, KASUGA I, FURUMAI H. 2016.

- Molecular characterization of low molecular weight dissolved organic matter in water reclamation processes using Orbitrap mass spectrometry[J]. *Water Research*, 100: 526-536.
- PHUNGSAI P, KURISU F, KASUGA I, FURUMAI H. 2018. Changes in dissolved organic matter composition and disinfection byproduct precursors in advanced drinking water treatment processes[J]. *Environmental Science & Technology*, 52(6): 3392-3401.
- PHUNGSAI P, KURISU F, KASUGA I, FURUMAI H. 2019. Molecular characteristics of dissolved organic matter transformed by O_3 and O_3/H_2O_2 treatments and the effects on formation of unknown disinfection by-products[J]. *Water Research*, 159: 214-222.
- PHUNGSAI P, KURISU F, KASUGA I, FURUMAI H. 2021. Changes in dissolved organic matter during water treatment by sequential solid-phase extraction and unknown screening analysis[J]. *Chemosphere*, 263: 128278.
- RAEKE J, LECHTENFELD O J, SEIWERT B, MEIER T, RIEMENSCHNEIDER C, REEMTSMA T. 2017. Photochemically induced bound residue formation of carbamazepine with dissolved organic matter[J]. *Environmental Science & Technology*, 51(10): 5523-5530.
- REMUCAL C K, CORY R M, SANDER M, MCNEILL K. 2012. Low molecular weight components in an aquatic humic substance as characterized by membrane dialysis and orbitrap mass spectrometry[J]. *Environmental Science & Technology*, 46(17): 9350-9359.
- RIEDEL T, DITTMAR T. 2014. A method detection limit for the analysis of natural organic matter via Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry[J]. *Analytical Chemistry*, 86(16): 8376-8382.
- RILEY S M, AHOOR D C, REGNER J, CATH T Y. 2018. Tracking oil and gas wastewater-derived organic matter in a hybrid biofilter membrane treatment system: A multi-analytical approach[J]. *Science of the Total Environment*, 613-614: 208-217.
- SANCHÍS J, JAÉN-GIL A, GAGO-FERRERO P, MUNTHALI E, FARRÉ M J. 2020. Characterization of organic matter by HRMS in surface waters: Effects of chlorination on molecular fingerprints and correlation with DBP formation potential[J]. *Water Research*, 176: 115743.
- SIMON C, ROTH V N, DITTMAR T, GLEIXNER G. 2018. Molecular Signals of Heterogeneous Terrestrial Environments Identified in Dissolved Organic Matter: A Comparative Analysis of Orbitrap and Ion Cyclotron Resonance Mass Spectrometers[J]. *Frontiers in Earth Science*, 6: 00138.
- TREMBLAY L B, DITTMAR T, MARSHALL A G, COOPER W J, COOPER W T. 2007. Molecular characterization of dissolved organic matter in a North Brazilian mangrove porewater and mangrove-fringed estuaries by ultrahigh resolution Fourier Transform-Ion Cyclotron Resonance mass spectrometry and excitation/emission spectroscopy[J]. *Marine Chemistry*, 105(1-2): 15-29.
- WANG Xiang, LUO Yan-li, DENG Wen-wen, DAI Zhi-peng. 2020. The 3D-EEM characteristics of DOM in high arsenic groundwater of Kuitun, Xinjiang[J]. *China Environmental Science*, 40(11): 4974-4981(in Chinese with English abstract).
- WANG Jing, LI Hai-rong, YANG Lin-sheng. 2020. Selenium levels in the environment, food, and human hair in Kashin-Beck Disease endemic areas of the Qinghai-Tibet Plateau[J]. *Progress in Geography*, 39(10): 1677-1686(in Chinese with English abstract).
- WU Feng-chang, WANG Li-ying, LI Wen, ZHANG Run-yu, FU Ping-qing, LIAO Hai-qing, BAI Ying-chen, GUO Jian-yang, WANG Jing. 2008. Natural organic matter and its significance in terrestrial surface environment[J]. *Journal of Lake Sciences*, 4(1): 1-12(in Chinese with English abstract).
- WÜNSCH U J, HAWKES J A. 2020. Mathematical chromatography deciphers the molecular fingerprints of dissolved organic matter[J]. *Analyst*, 145(5): 1789-1800.
- XIE Bing-xin, WANG Shu, SUN Hui, CHEN Yu-wen, FAN Shi-yu, LI Xin. 2020. Impacts of dissolved organic matter on the environmental behavior of persistent organic pollutants: a review[J]. *Environmental Pollution & Control*, 42(12): 1563-1568(in Chinese with English abstract).
- YASSINE M M, HARIR M, DABEK-ZLOTORZYNSKA E, SCHMITT-KOPPLIN P. 2014. Structural characterization of organic aerosol using Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry: Aromaticity equivalent approach[J]. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 28(22): 2445-2454.
- YUTHAWONG V, KASUGA I, KURISU F, FURUMAI H. 2020. Application of Orbitrap mass spectrometry to investigate seasonal variations of dissolved organic matter composition in a eutrophic lake in Japan[J]. *Environmental Science: Water Research & Technology*, 6(7): 1816-1827.
- ZHANG Bo, GAO Jian-wen, FAN Shao-jin, WANG Shu-hang, ZHENG Shuo-fang, JIANG Xia. 2020. Origin and spatial-temporal distribution characteristics of dissolved organic matter in Nanhu Lake water system[J]. *Journal of Environmental Engineering Technology*, 10(6): 912-919(in Chinese with English abstract).
- ZHANG L, LI A, LU Y F, YAN L, ZHONG S, DENG C L. 2009. Characterization and removal of dissolved organic matter (DOM) from landfill leachate rejected by nanofiltration[J]. *Waste Management*, 29(3): 1035-1040.
- ZHANG X X, CHEN Z L, HUO X Y, KANG J, ZHAO S X, PENG Y T, DENG F X, SHEN J M, CHU W. 2021. Application of Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry in deciphering molecular composition of soil organic matter: A review[J]. *Science of the Total Environment*, 756: 144140.
- ZHUROV K O, KOZHINOV A N, TSYBIN Y O. 2013. Evaluation of high-field orbitrap fourier transform mass spectrometer for petroleomics[J]. *Energy & Fuels*, 27(6): 2974-2983.
- ZUBAREV R A, MAKAROV A. 2013. Orbitrap mass spectrometry[J]. *Analytical Chemistry*, 85(11): 5288-5296.