

基于自研固相萃取装置和超高分辨质谱的地下水DOM快速提取与分子表征

陈超^{1,2}, 陈智勇^{1*}, 廖智源¹, 陈淦昌¹

(1. 广东省科学院测试分析研究所(中国广州分析测试中心) 广东省化学测量与应急检测技术重点实验室, 广东 广州 510070; 2. 广东省科学院测试分析研究所(中国广州分析测试中心) 广东省原位电离质谱分析工程技术研究中心, 广东 广州 510070)

摘要: 该文研制了一种适用于大体积水样中溶解性有机质(DOM)高效富集的固相萃取装置。采用自研装置结合超高分辨傅里叶变换离子回旋共振质谱(FT-ICR MS), 对珠江出海口附近地下水中的DOM进行了快速批量提取和分子组成差异分析。结果表明: 自研装置操作简便快速, 正、负离子模式下验证样本原始数据的Bray-Curtis相异度均低于13%, 显示了该方法良好的重复性; HLB和PPL固相柱的萃取回收率与原样DOC浓度之间无显著相关性; 合并ESI+和ESI-模式数据进行联合分析, 不仅简化了数据分析流程, 还能全面表征DOM分子结构特征的差异; 基于强度加权平均分子参数的主成分分析显示, HLB柱对10个样本具有更显著的区分效果。该研究为深入认识地下水中DOM的分子组成特征提供了技术支撑与理论依据。

关键词: 地下水; 溶解性有机质; 固相萃取装置; 傅里叶变换离子回旋共振质谱(FT-ICR MS)

中图分类号: O657.63; X132 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-4957(2026)10-0001-09

Rapid Extraction and Molecular Characteristics of DOM in Groundwater Using Self-developed Solid-phase Extraction Device with Ultra-high Resolution Mass Spectrometry

CHEN Chao^{1,2}, CHEN Zhi-yong^{1*}, LIAO Zhi-yuan¹, CHEN Gan-chang¹

(1. Guangdong Provincial Key Laboratory of Chemical Measurement and Emergency Test Technology, Institute of Analysis, Guangdong Academy of Sciences(China National Analytical Center, Guangzhou), Guangzhou 510070, China; 2. Guangdong Provincial Engineering Research Center for Ambient Mass Spectrometry, Institute of Analysis, Guangdong Academy of Sciences(China National Analytical Center, Guangzhou), Guangzhou 510070, China)

Abstract: This study developed an inhouse solid-phase extraction device for the efficient enrichment of dissolved organic matter(DOM) in large-volume water samples. The combination of this device and ultra-high resolution characteristics of Fourier transform-ion cyclotron resonance mass spectrometry were employed to rapidly batch extract and analyze the molecular composition differences of the DOMs in groundwater near the Pearl River estuary. The inhouse device performed simple and fast batch processing of the groundwater samples. The Bray-Curtis dissimilarity values calculated from the raw data of samples in both the positive and negative ion modes were consistently below 13%, confirming the excellent repeatability of the method. The extraction recoveries showed no significant correlation between the dissolved organic carbon concentrations in the original samples; further, no marked superiority between the hydrophilic-lipophilic balance(HLB) and priority pollutant cartridges was observed. Consolidating data acquired in both the positive- and negative-ion electrospray ionization modes streamlined the analytical workflow while enabling a more comprehensive characterization of the differences in the DOM molecular structural features. Moreover, the principal component analysis of the intensity-weighted average molecular parameters indicated that the HLB cartridges yielded more significant discriminatory power for the 10 samples. Overall, this study provides technical and

收稿日期: 2026-05-13; 修回日期: 2026-06-23

基金项目: 广东省科学院测试分析研究所(中国广州分析测试中心)所级科研项目(202511)

* 通讯作者: 陈智勇, 博士, 副高级研究员, 研究方向: 环境化学, E-mail: chenzy@fenxi.com.cn

theoretical support for advancing the understanding of DOM molecular composition in groundwater systems.

Key words: groundwater; dissolved organic matter; solid-phase extraction device; Fourier transform-ion cyclotron resonance mass spectrometry

溶解性有机质(DOM)是一种相对稳定、非均质且结构复杂的混合物,由腐殖酸、蛋白质和碳水化合物等结构及性质各异的天然有机化合物组成,广泛存在于地表水、地下水、土壤、沉积物等环境介质中,在地球生态系统碳循环过程中发挥着重要作用^[1]。DOM分子富含羧基、羟基、酚类等活性官能团,可与无机物或疏水性有机物发生相互作用,进而调控这些物质的化学形态、溶解性、毒性和生物利用度^[2-4]。因此,深入分析DOM分子组成,有助于研究DOM对人类活动引入环境中有机污染物(如多氯甲烷等)及无机污染物(如卤素、重金属等)的毒性效应和迁移转化行为的影响^[5-7]。

天然水体中DOM的分子组成分析通常采用傅里叶变换离子回旋共振质谱(FT-ICR MS)法。水样在进入仪器前需经固相萃取(SPE)小柱进行富集和除盐,样品用量一般不低于500 mL^[5,8-10]。DOM的富集与除盐前处理流程包括:SPE小柱活化(需依次用甲醇、纯水和酸化水洗涤)、上样、酸化水和纯水淋洗、氮气吹干柱填料,以及甲醇洗脱^[11]。常用SPE小柱的规格通常不超过6 mL。在大体积水样的萃取前处理过程中,研究人员往往借助转接头将SPE小柱与大容量样品池连接,以提高前处理效率。为保证柱填料充分接触性质差异较大的不同溶液,需手动拔插SPE上端的转接头,以便于不同溶液的替换,并确保溶液依靠重力作用通过柱填料。天然水体中DOM的FT-ICR MS测试均为非靶向分析,且需对大批量大体积样品进行综合分析。在上述前处理过程中,反复手动拔插每个SPE小柱上端的转接头,不仅效率低下,而且可能引入有机污染物,导致结果重现性较差,从而影响测试结果的可靠性。

此外,在天然水体中DOM富集与纯化的SPE小柱柱填料选择方面,目前应用最广泛、萃取回收率较高的是PPL柱^[12],但该填料的吸附特性并不适用于所有类型样本。已有研究^[13-14]比较了PPL、C₁₈、HLB和ENV等SPE小柱对河水、地下水中DOM提取的选择性差异,结果显示,PPL、C₁₈、HLB柱作为非极性吸附剂,对DOM不同分子类型的吸附覆盖范围更广,其中HLB柱对富氧化合物的萃取能力明显优于其他小柱。

鉴于此,为保障大批量、大体积水样中DOM的FT-ICR MS测试结果具有良好的重现性和可靠性,同时提高此类样品的前处理效率,本研究研制出一种适用于大体积水样中DOM高效富集的固相萃取装置。以珠江出海口某些工厂附近的地下水为研究对象,验证了基于自研固相萃取装置的地下水DOM快速批量提取及分子表征方法的重现性;利用FT-ICR MS的超高分辨特点,采用电喷雾离子源(ESI)的正离子和负离子模式,表征DOM分子结构特征,并对比了两种常用的HLB和PPL柱萃取DOM分子组成的差异。本研究可为后续探究人为活动对地下水中DOM组成变化的影响提供理论支持。

1 实验部分

1.1 样品采集

地下水样本于2025年3~4月采自珠江出海口附近监测井,取自地下水面2~3 m的浅水层,采样点分布如图1所示。依据《地下水环境监测技术规范》(HJ164-2020)^[15]进行样品采集,S1~S9点位采集的水样来自在用的旧监测井,S0点位是当天打井并现场采样的样本。采集的水样用0.45 μm孔径的玻璃纤维滤膜在采样现场过滤,过滤液分别装入预先洗干净的棕色玻璃瓶。用于FT-ICR MS分子表征的样本,在采样现场用盐酸(优级纯,国药集团化学试剂有限公司)调至pH 2.0,样本当天运送至实验室,4℃冷藏避光保存直至后续分析。

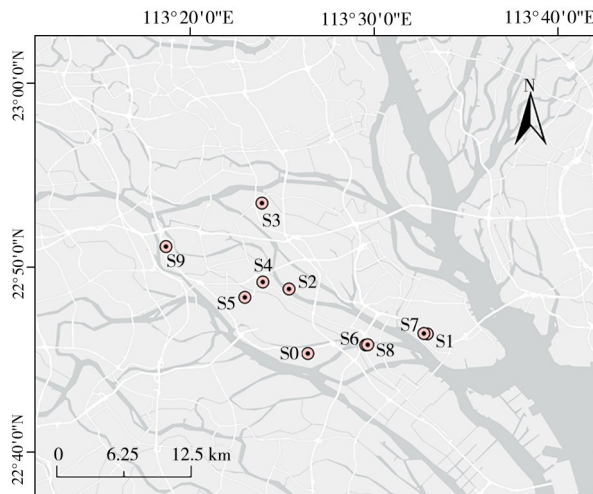


图1 采样点分布

Fig. 1 Sampling site distribution

1.2 地下水 DOM 的前处理

1.2.1 固相萃取装置组成 基于天然水体 DOM 通用提取流程^[5,8]所研制的针对大体积水样中 DOM 高效富集的固相萃取装置如图 2 所示, 主要由样品架、底座支架、宝塔两通、小柱固定盘、两通阀、气动升降台、滑轨、洗脱液收集架和连接管路组成。其中, 小柱固定盘置于气动升降台的最上方, 通过气动升降台控制宝塔两通与 SPE 小柱的自动连接和分离。利用真空泵提供的负压, 在切换性质差异较大的溶液时, 可确保固相萃取柱填料内部及其上方持续保持湿润状态, 从而使后续不同溶液能够依靠自身重力顺利流出。切换溶液的具体操作如下: 当前一种溶液从 SPE 小柱流尽后, 将管路插入下一种溶液(接触到不同溶液的管路外表面需先用蒸馏水冲洗干净); 随后开启真空泵, 待管路中充满下一种溶液并流入 SPE 小柱上端后, 关闭真空泵, 然后控制气动升降台下降, 使 SPE 小柱与宝塔两通分离, 溶液将在负压与重力作用下自动从 SPE 小柱上端滴入; 待柱填料上方续存液面高度约为 1 cm 时, 控制气动升降台上升, 使 SPE 小柱与宝塔两通紧密连接, 开启真空泵数秒后关闭。此外, 在装入或取出 SPE 小柱时, 需将连接小柱固定盘的气动升降台通过滑轨拉至最外端(如图 2B)。氮气吹干柱填料的操作如下: 将接触过不同溶液的所有管路入口端汇集, 插进一根粗管路的一端, 粗管路的另一端连接氮气源; 使 SPE 小柱与宝塔两通紧密连接, 开启真空泵并通入氮气, 直至柱填料完全干燥。洗脱液收集步骤如图 2C 所示, 将气动升降台拉至最外端, 拆下两通阀下端的管路, 将洗脱液收集架和收集瓶置于两通阀下端, 手动加入一定量甲醇(色谱纯, 德国默克公司), 待洗脱液依靠自身重力完全滴入收集瓶即可。

1.2.2 样品前处理流程 采用两种不同填料的 SPE 小柱: HLB 柱(200 mg/6 mL, 美国 Waters 公司)和 PPL 柱(200 mg/3 mL, 美国 Agilent 公司), 分别对经过滤并用优级纯盐酸酸化至 pH 2.0 的地下水样本进行富集和纯化处理。两种 SPE 小柱的前处理流程保持一致, 具体步骤如下: (1)依次用 30 mL 甲醇、30 mL 屈臣氏蒸馏水及 30 mL pH 2.0 的盐酸酸化水溶液活化 SPE 小柱; (2)分别取 300 mL 或 50 mL 已过滤酸化的样本溶液, 使其通过 SPE 小柱; (3)待全部样本溶液流经 SPE 小柱后, 依次用 50 mL pH 2.0 的盐酸酸化水溶液和 20 mL 屈臣氏蒸馏水淋洗 SPE 小柱; (4)采用高纯度氮气(99.9%)配合真空泵吹干柱填料; (5)最后用 6 mL 甲醇以重力洗脱方式收集 SPE 小柱上富集的 DOM, 并将所得洗脱液定容至 6 mL。

1.3 样品测定

1.3.1 溶解性有机碳(DOC)分析 利用总有机碳分析仪(耶拿 TOC 仪 2 100s, 德国)对已过滤酸化至 pH 2.0 的地下水原样和前处理后的甲醇洗脱液(甲醇洗脱液用氮气吹干后, 再用酸化水复溶)进行测试, 采用 NPOC 液体进样模式, 样品测试前需用盐酸调至 pH 2.0, 每个样品平行测试 3 次。

1.3.2 高分辨质谱分析 样品的甲醇洗脱液用蒸馏水进行 1:1(体积比)稀释, 用 7T FT-ICR MS(Solarix XR, 德国 Bruker 公司)分别在 ESI 正(+)、负(-)离子模式下进行测试。FT-ICR MS 测试样品前, 使用 10 mg/L 的 Suwannee 河天然有机物(SRNOM, R101N, 国际腐殖酸协会)甲醇水(体积比 1:1)溶液作为标准样品, 对仪器进行质量轴外部校正。质荷比(m/z)扫描范围为 100~1 000 Da, 样品溶液通过注射泵注入 ESI 的速度为 2 μ L/min, 离子在碰撞室中累积 0.01~0.2 s, 然后以 0.7 ms 的飞行时间转移到 ICR 池中, 共进行 300 次 4 M 字节的扫描累积, 在 m/z 400 的分辨率为 260 000; 雾化气流为 0.8 bar, 干燥气流速为 4.0 L/min, 干燥气温度为 200℃。数据采集过程中分别采用 m/z 375.141 42(ESI+) 和 m/z 369.119 11(ESI-)作为内标离子进行实时校准, 原始数据利用 Bruker Daltonik Data Analysis 5.0 软件进行数据校准后, 再进行分子式赋值。

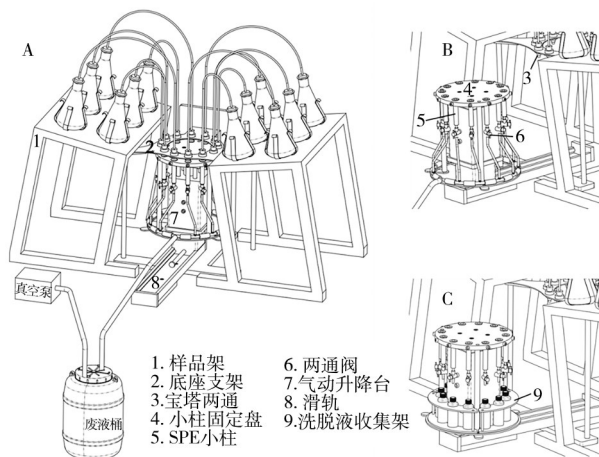


图 2 固相萃取装置示意图

Fig. 2 Schematic of the solid-phase extraction (SPE) device
A: total graph; B: position diagram showing the loading or removal of the SPE column; C: diagram of the elution solvent collection process

1.4 数据处理及分析

采用 FTMSDeu 算法进行分子式赋值^[16-18], 计算条件: (1) 分子式赋值误差 $\leq 0.6 \times 10^{-6}$; (2) 卤素分子式和不含卤素分子式的信噪比 (S/N) 分别为 $S/N \geq 10$ 和 $S/N \geq 6$; (3) 对于 C 原子个数 ≥ 5 的分子, $0.3 \leq (H+D+Cl+Br)/C \leq 2.25$ 且 $0 < O/C \leq 1.2$; (4) 对于 C 原子个数 ≤ 4 的分子, $(H+Cl+Br)/C \leq 4$ 且 $0 \leq O/C \leq 1.2$; (5) DBE 值为 ≥ 0 的整数, 电荷值为 -1 或 -2; (6) 对所有分子, $1 \leq {}^{12}C \leq 50$, ${}^{13}C \leq 2$, ${}^{18}O \leq 1$, ${}^{14}N \leq 6$, ${}^{15}N \leq 1$; ${}^{32}S \leq 3$, ${}^{33}S \leq 1$, $P \leq 1$, ${}^{35}Cl \leq 5$, ${}^{37}Cl \leq 5$, ${}^{79}Br \leq 5$, ${}^{81}Br \leq 5$; $10 \leq \text{双键当量}(\text{DBE}) - \text{减氧原子}(\text{DBE}-O) \leq 10$ 。

通常借助 DBE、修正芳香性指数 (AI_{mod}) 和碳的名义氧化态 (NOSC) 等参数进一步表征样品的分子信息^[19], 其中 DBE 和 AI_{mod} 分别表示分子中双键和双环的不饱和度以及有机化合物的芳香性^[1], 由式(1)和式(2)计算; NOSC 与有机化合物的生物地球化学反应性和生物利用度有关, 可以间接反映物质的极性^[20], 可由式(3)进行估算; 在计算 NOSC 值时, 假设 C 最终会被氧化成 +4 态, 相反, 所有其他元素保持其初始氧化态 ($H=+1$, $O=-2$, $N=-3$, $S=-2$, $P=+5$, $Cl=-1$, $Br=-1$)。

$$\text{DBE} = 1 + \frac{2nC - (nH + nCl + nBr) + nN + nP}{2} \quad (1)$$

$$AI_{\text{mod}} = \frac{\text{DBE}_{AI}}{C_{AI}} = \frac{1 + nC - 0.5nO - nS - 0.5(nH + nN + nP + nCl + nBr)}{nC - 0.5nO - nN - nS - nP} \quad (2)$$

$$\text{NOSC} = 4 - \frac{4nC + nH - 3nN - 2nO - 2nS + 5nP - nCl - nBr}{nC} \quad (3)$$

式中: nC 、 nH 、 nO 、 nN 、 nS 、 nP 、 nCl 、 nBr 分别为每个分子式中 C、H、O、N、S、P、Cl、Br 原子的化学计量数。对于公式(2), 若 $\text{DBE}_{AI} \leq 0$ 或 $C_{AI} \leq 0$, 则 $AI_{\text{mod}} = 0$ 。

包括 DBE 和 AI_{mod} 在内的所有分子参数 (MP) 的强度加权值由式(4)计算:

$$MP_{iw} = \frac{\sum \text{Int}_i \times MP_i}{\sum \text{Int}_i} \quad (4)$$

式中, MP_i 为式 i 的分子参数 ($MP_i = m/z$ 、 H/C 、 O/C 、 S/C 、 Cl/C 、 Br/C 、 AI_{mod} 、DBE、NOSC、 DBE/C); Int_i 为式 i 的强度, MP_{iw} 为强度加权分子参数 ($MP_{iw} = m/z_{iw}$ 、 H/C_{iw} 、 O/C_{iw} 、 S/C_{iw} 、 Cl/C_{iw} 、 Br/C_{iw} 、 $AI_{\text{mod}, iw}$ 、DBE _{iw} 、NOSC _{iw} 、 DBE/C_{iw})。

Bray-Curtis 差异性^[6] (%) 由式(5)计算, 将 FT-ICR MS 谱图中的每个峰 (m/z) i (从 i_1 到 i_n) 的峰强度 I 进行比较。

$$\text{Bray - Curtis dissimilarity} (\%) = \frac{\sum_{i=1}^n |I_{a,i} - I_{b,i}|}{\sum_{i=1}^n (I_{a,i} + I_{b,i})} \times 100 \quad (5)$$

2 结果与讨论

2.1 基于自研固相萃取装置分析方法的重复性验证

以 S0 水样和 SRNOM 标准品配制的水样 (1 mg/L) 为验证样本, 上样体积为 300 mL, 采用 PPL 柱, 用自研固相萃取装置和目前常用的玻璃固相萃取装置分别对验证样本进行富集和纯化, 比较两种不同装置处理的重复性差异。玻璃固相萃取装置的使用方式: 将 SPE 小柱分别插在 12 孔位的玻璃固相萃取装置 (由透明玻璃槽和顶盖组成) 上, 利用含管路的转接头将 SPE 小柱上端与大容量样品池连接, 期间手动拔插 SPE 小柱上端连接的转接头。重复性验证包含: 2 个不同操作人员对 2 种验证样本分别平行进行 3 次富集和纯化; 1 个操作人员间隔 2 d 重复进行 1 次 2 种验证样本的 3 个平行处理; 其他前处理条件均保持一致, 每组重复性实验均有 9 个数据。与常用的玻璃装置相比, 利用自研装置处理 1 批样本的时间平均缩短了 1.5 h (前者整个过程需要 6~7 h), 操作过程更省力, 可降低科研人员的实验负荷。

基于原始数据中 m/z 和峰强度 I 对两种装置处理后的测试结果进行 Bray-Curtis 差异性分析。结果显示, 采用自研装置处理 S0 和 SRNOM 水样后, 两者在正、负离子模式下原始数据的 Bray-Curtis 相异度均低于 13% (见图 3A), 4 组数据均无异常离群点, 重复性结果良好。对比图 3A 和图 3B 可见, 采用常用的玻璃装置处理所得的重复性 Bray-Curtis 相异度值显著高于自研装置处理组, 表明自研装置的重复性

优于常用的玻璃装置；在两组数据中，SRNOM 样本的 Bray–Curtis 相异度值均高于 S0 样本，说明样本的 DOC 初始浓度越高，重复性实验结果的差异越小。因此，采用本研究所研发的固相萃取装置进行样本前处理，不仅能够确保测试结果具有良好的重复性，还能显著提升样本前处理效率。

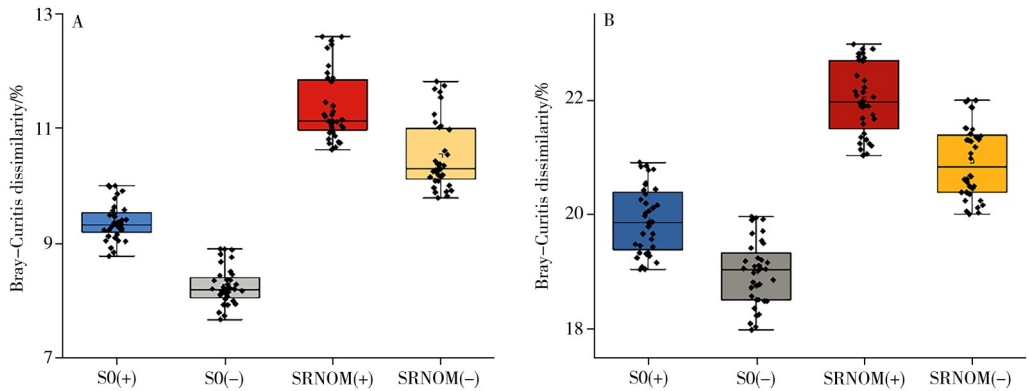


图3 重复性验证的 Bray–Curtis 差异性分布
Fig. 3 Bray–Curtis dissimilarity distribution of the repeatability verification
A: self-developed device; B: glass device

2.2 不同填料 SPE 小柱萃取 DOM 的回收率

本研究采集的 10 个地下水样本的 DOC 浓度差异较大(见表 1)，浓度范围为 0.50~34.3 mg·L⁻¹，表明所选样本具备一定的代表性。分别利用 HLB 和 PPL 柱萃取相同和不同样本的 DOM 回收率，结果显示，不同柱填料对一样本的萃取效率存在差异，两种 SPE 小柱萃取回收率的相对偏差(RD)(RD=差值的绝对值/平均值×100)为 1.1%~15%；10 个样本中 S4 和 S7 样本的萃取回收率最低，在两种 SPE 小柱中均为 16% 左右，而两个样本的原样 DOC 浓度却存在显著差异，分别为(1.92±0.01) mg·L⁻¹和(34.3±0.1) mg·L⁻¹。为判断 S4 和 S7 萃取回收率最低是否由吸附过载所致，本研究通过降低原样实际上样体积进行验证，结果显示两个样本用蒸馏水稀释 6 倍与不稀释直接上样的萃取回收率相对偏差在 1.5%~2.1% 范围内，说明吸附过载并非是导致回收率很低的主要原因；主要原因可能在于其中存在含量相对较高的高亲水性的小分子有机酸、有机氨、葡萄糖等物质，以及完全离子化的有机化合物，这些组分均难以被 HLB 和 PPL 柱有效吸附。综上所述，不同样本在同一柱填料上的吸附选择性，以及同一样本在不同类型填料上的吸附选择性，均存在显著差异；同时，原样 DOC 浓度与萃取回收率之间并无相关性。

表 1 原样的 DOC 浓度和固相萃取回收率结果
Table 1 Original dissolved organic carbon (DOC) concentration and solid-phase extraction (SPE) recovery results

Sample	DOC/(mg·L ⁻¹)	Loading volume/mL	HLB recovery/%	PPL recovery/%	RD/%
S0	12.3±0.2	300	57.3±0.4	54.6±0.2	4.8
S1	3.62±0.02	300	57.4±0.4	67.2±0.6	15
S2	5.57±0.09	300	62.1±0.1	65.5±0.4	5.2
S3	0.50±0.01	300	80.1±3.0	76.9±1.1	4.3
S4	34.3±0.1	300/50*	16.0±0.3	16.2±0.4	1.4
S5	2.17±0.02	300	56.2±0.2	53.9±0.6	4.3
S6	5.11±0.06	300	63.7±0.2	71.6±1.3	11
S7	1.92±0.01	300/50*	15.3±0.6	16.1±0.4	4.5
S8	11.6±0.1	300	68.0±0.3	67.2±0.1	1.1
S9	1.88±0.03	300	78.6±0.6	76.6±0.3	2.5

* dilute 50 mL of the original sample with pure water to 300 mL before sample loading

此外，HLB 与 PPL 柱在萃取相同地下水样品时所表现出的回收率显著差异，本质上归因于二者固定相材料吸附机理的选择性差异。DOM 作为一类组成极为复杂的混合物，其分子特征在芳香性、含氧官能团丰度及分子量分布等方面存在高度异质性。具体而言，PPL 柱对芳香族及不饱和结构化合物具有更强的保留能力，而 HLB 柱则在极性化合物和脂肪族组分的萃取效率方面更具优势^[13-14]。因此，两种萃取柱将依据各自的选择性吸附机制，对复杂 DOM 体系中不同化学性质的组分进行差异性保留，从

而导致整体回收率的系统偏差。由此可见,采用统一且通用的萃取方法对同一类型的不同样本进行富集与纯化,所得分析结果可能存在一定局限性,难以准确揭示不同样本之间在分子组成上的全部差异。

2.3 地下水 DOM 分子组成差异分析

2.3.1 强度加权平均分子参数的 PCA 分析 为比较不同填料 SPE 小柱萃取 DOM 的分子特征差异、不同地下水样本间的差异,并探究地下水 DOM 的来源特征及环境效应,本研究分别对 ESI 正离子(+)和负离子(-)模式下的多组单个数据,以及两种离子模式的多组合并数据(对同一柱填料、同一样本在 ESI+与 ESI-模式下的同一参数取平均值)进行了 PCA 分析。如图 4 所示,单个数据组分析(图 4A)的主成分 1(PC1)和主成分 2(PC2)的方差贡献率分别为 55.7%和 14.8%,累计超过 70%;合并数据组分析(图 4B)的 PC1 和 PC2 方差贡献率分别为 48.0%和 19.5%,累计接近 70%。两类分析结果均表明, $AI_{mod, iw}$ 、 DBE_{iw} 、 $NOSC_{iw}$ 、 O/C_{iw} 等参数在组内具有较强相关性,且在 PC1 轴上呈现较高的正载荷,揭示了图 4A 与 4B 中的 PC1 主要表征陆源输入的芳香性较高、不饱和程度较大的 DOM 惰性分子^[21]。在单个数据组分析中,样本数据点按 ESI+与 ESI-模式区分,分别集中于 PC1 的负载荷区与正载荷区。10 个样本的 ESI+数据点相对集中,其中 S1 与 S4 样本在 PPL 柱 ESI+模式下的数据点、S3 与 S5 样本在 PPL 柱 ESI-模式下的数据点几乎重合,难以区分不同样本间的差异。相比之下,合并数据组中 10 个样本在不同柱填料下的数据点分散性较好,其中 HLB 柱的数据点间分散程度略高,而 S6 与 S8 样本在 PPL 柱下的数据点仍接近重合。

综上,基于本研究采集的 10 个地下水样本的强度加权平均分子参数 PCA 分析表明,仅分析 HLB 柱萃取后 ESI+与 ESI-模式合并的强度加权分子参数,即可快速、有效地区分不同地下水样本间的显著差异。

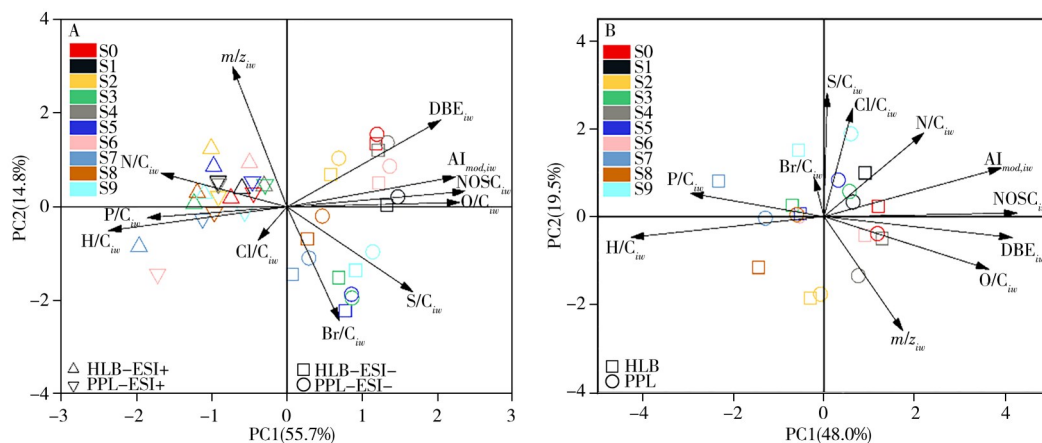


图 4 强度加权平均分子参数的 PCA 分析结果

Fig. 4 Principal component analysis results of intensity-weighted average molecular parameters

A: individual; B: aggregation

2.3.2 不同分子类型分布 基于“2.3.1”的分析结果,将同一柱填料下同一样本在 ESI+和 ESI-模式下采集的数据进行合并(同一参数取平均值),并分别绘制不同分子元素组成及分子类型对应的强度百分比分布图(图 5),以评估不同柱填料对同一样本中各类型分子的萃取效果差异。按元素组成划分的分子类型如图 5A 所示, m/z 峰强度占比较大的 CHO 类、CHON 类、含硫(S)和含磷(P)化合物的强度百分比分别为 56.3%~77.5%、14.0%~29.2%、6.0%~17.4%和 0.3%~5.4%;对于 S1 和 S9 样本,不同柱填料萃取所得含硫化合物的强度占比均较高,与其他水样相比差异明显。此外,对于 CHON 类化合物, S0、S3、S4、S5、S6 及 S9 样本在不同柱填料萃取下的强度占比结果相对差均大于 20%,其中 S9 样本的相对差最大,为 48.6%。

根据 O/C 和 H/C 比值,可将分子式分为 8 类化合物:木质素类($0.1 \leq O/C \leq 0.67$, $0.7 \leq H/C \leq 1.5$)、饱和化合物类($0 \leq O/C \leq 0.52$, $1.5 \leq H/C \leq 2.2$, $N \geq 0$)、单宁类($0.67 \leq O/C \leq 1.2$, $0.5 \leq H/C \leq 1.5$)、碳水化合物类($0.71 \leq O/C \leq 1.2$, $1.5 \leq H/C \leq 2.4$)、氨基糖类($0.52 \leq O/C \leq 0.71$, $1.5 \leq H/C \leq 2.2$)、不饱和碳氢化合物类($0 \leq O/C \leq 0.1$, $0.7 \leq H/C \leq 1.5$)、缩合芳烃类($0 \leq O/C \leq 0.67$, $0.2 \leq H/C \leq 0.7$)和其他分子^[22-23]。如图 5B

所示, m/z 峰强度占比较大的两种分子类型分别为木质素类(64.4%~87.2%)和饱和化合物类(6.5%~26.2%); HLB-S3 样本(2.1%)、PPL-S6 样本(2.6%)及 HLB-S7 样本(3.6%)中不饱和化合物类的强度占比显著高于其他样本(0.2%~1.0%); 不同柱填料萃取的 S5、S7 和 S8 样本中缩合芳烃类化合物的平均占比均低于 0.85%, 其余样本的占比为 1.4%~2.1%。

上述结果表明, 本研究采集的 10 个地下水样本以 CHO 类和木质素类化合物为主, 与其他天然水体 DOM 的分子组成分布规律相似^[22,24-26]; 不同填料对同一样本中不同类型化合物的萃取效率存在显著差异, 且无明显规律性。

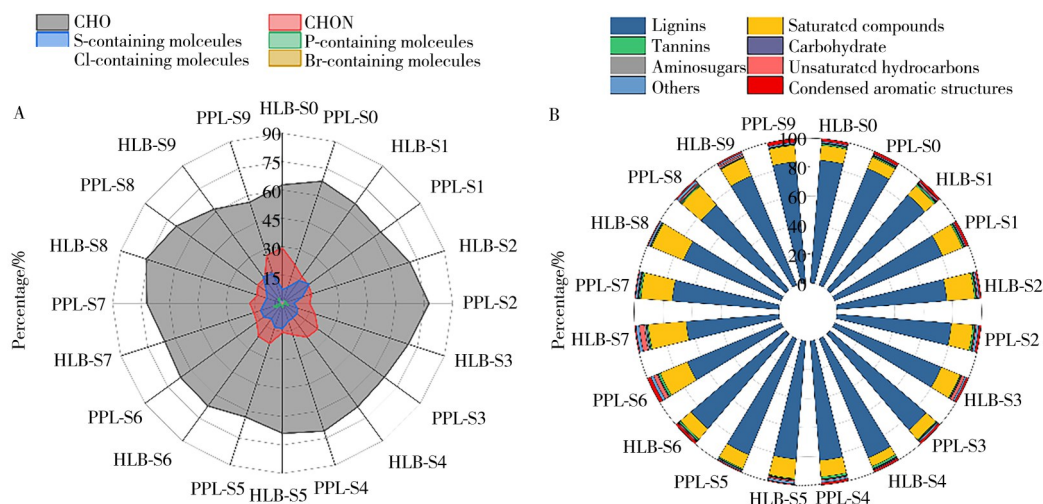


图 5 DOM 的分子元素(A)及分子类别(B)的强度百分比分布

Fig. 5 Intensity percentage distribution of molecular elements(A) and molecular classes(B) of DOM molecules

2.3.3 HLB 柱萃取 DOM 的分子特征 研究表明^[13], HLB 柱对富氧化合物的富集具有较为显著的优势, 而上述结果显示, HLB 柱对本研究采集的地下水样本表现出良好的区分效果。为进一步了解 HLB 柱对 10 个样本萃取的 CHO、CHON、CHOS 及 CHONS 类分子的差异, 将 HLB 柱在 ESI+ 和 ESI- 模式下测得的数据汇总后, 按相对丰度升序排序后分别绘制 Van Krevelen(VK)图、(DBE-0.50)/C vs NOSC 图和韦恩图(见图 6 和图 7)。图 6 为同时区分了不同元素组成和不同化合物类别分类的 VK 图, 结果显示 S7 样本的单宁类区域中 CHO 类分子分布较为分散, 呈现 O/C 值较高、H/C 值较低的特点, 表明 S7 样本中含有较多类型的富氧(O)化合物, 且这些化合物含有较多的羧基; S7 样本中的 CHOS 和 CHONS 类化合物较多地集中在不饱和化合物类和木质素类(低 O/C 值)区域, 其相对峰强度和分子个数均高于其他样本, 说明 S7 样本中可能存在较多种类的表面活性剂类物质; 此外, 相较于除 S7 以外的其他样本, S2 样本中也存在种类较多和峰强度较高的表面活性剂类物质。

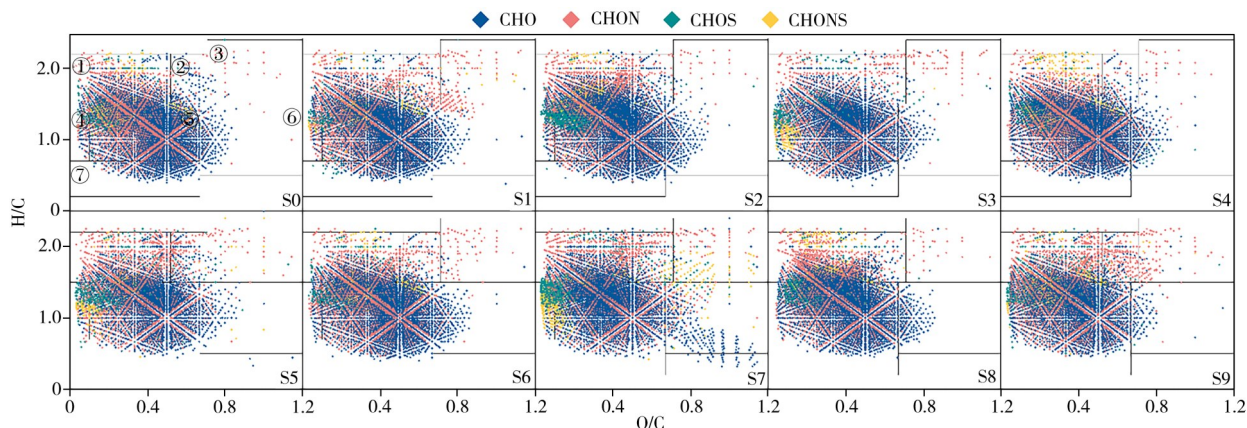


图 6 HLB 柱萃取样本的 ESI+ 和 ESI- 汇总数据的 VK 图

Fig. 6 Van Krevelen diagrams of the summarized electrospray ionization (ESI)+ and ESI- data of samples extracted by the hydrophilic-lipophilic balance (HLB) column

① Saturated compounds, ② amino sugars, ③ carbohydrates, ④ unsaturated hydrocarbons, ⑤ lignins, ⑥ tannins, and ⑦ condensed aromatic structures

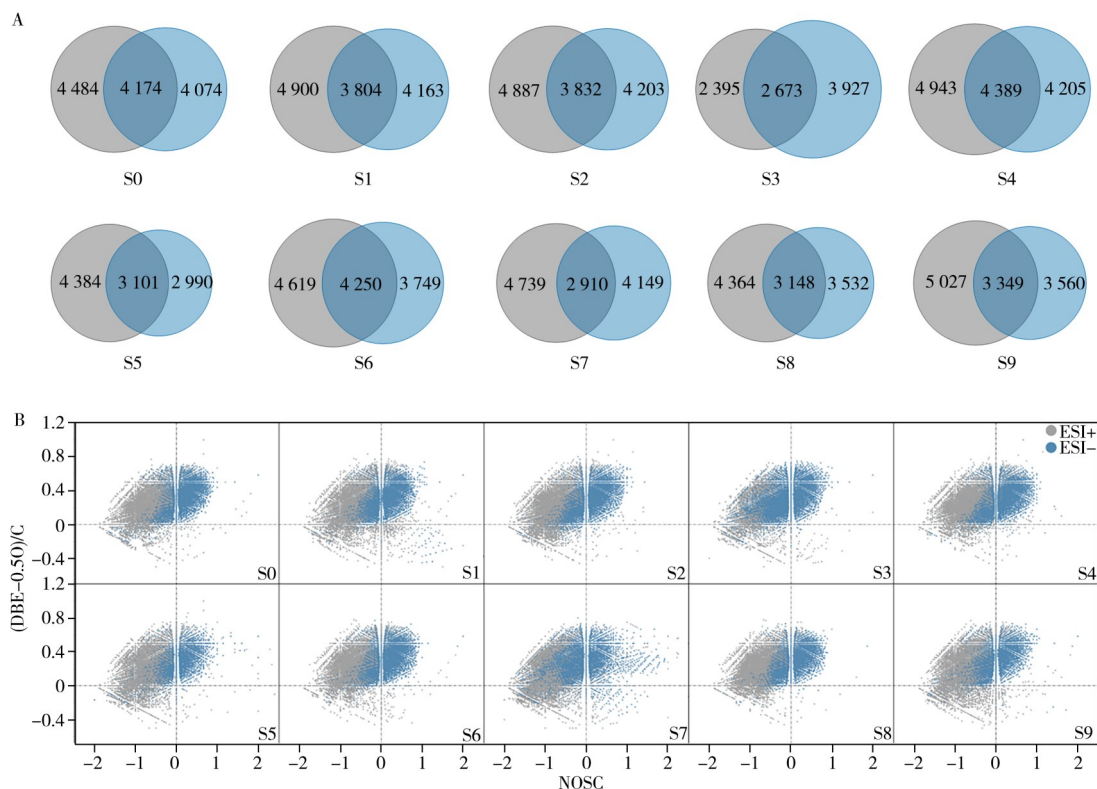


图 7 HLB柱萃取样本的韦恩图(A)和 $(\text{DBE}-0.50)/\text{C}$ vs NOSC图(B)

Fig. 7 Venn(A) and $(\text{double bond equivalent}(\text{DBE})-0.50)/\text{C}$ versus nominal oxidation state of carbon(NOSC)(B) diagrams of samples extracted by the HLB column

通常, DOM分子中的大多数氧原子被假设存在于羧基和羟基官能团中。DBE-O被认为能较好地量化碳骨架的不饱和程度^[27], 但含O化合物中可能会存在大量羧基和亚硫酸根, 羧基中2个O对应1个双键, 硫酸根中3个O对应2个双键。若采用DBE-O计算, 碳骨架的不饱和程度会被低估, 而采用DBE-0.50则更为合理。 $(\text{DBE}-0.50)/\text{C}$ 和NOSC(为将共用电子对全部分配给电负性较大的原子后计算得出的碳的氧化数, 用于追踪氧化还原反应的参数)的正值越大, 分别表示碳骨架的不饱和程度和氧化程度越高^[28]。因此, 本研究选择DBE-0.50作为评估碳骨架不饱和程度的指标。图7显示, ESI+模式能检测到较多相对丰度较高的还原性物质($\text{NOSC}<0$), 而ESI-模式则能检测到较多相对丰度较高的氧化性物质($\text{NOSC}>0$); 两种模式下均检测到大量碳骨架不饱和程度较高的化合物; 相较于其他样本, S3样本的ESI-模式检测到更多碳骨架不饱和程度较高的还原性物质。此外, 韦恩图(图7A)显示, 除S3样本外, 其余样本在ESI+模式下测得的分子个数均远大于ESI-模式, 这可能与S3原样DOC浓度较低有关。总体而言, 图6与图7清晰展示了不同样本间各类分子在可视水平上的显著差异, 据此可快速识别出差异常较为显著的物质种类及其特征。

3 结 论

本研究研制了一种适用于大体积水样中DOM高效富集的固相萃取装置。相较于常用玻璃固相萃取装置, 采用本研究自研装置处理含SRNOM标准品的水样及珠江出海口地下水时, PPL柱在ESI+和ESI-模式下均表现出良好的测试重复性。该装置能确保在不同时间分批处理大批量样品时, 由人为操作因素引起的结果差异可忽略不计。进一步地, 本研究将FT-ICR MS在ESI+和ESI-模式下测得的数据合并进行分析, 相对简化了数据处理流程, 并能较为全面地表征DOM分子结构特征的差异。与PPL柱相比, HLB柱对本研究所采集的地下水样本具有更显著的区分效果。因此, 在实验条件有限的情况下, 可以优先选用HLB柱对地下水样本进行萃取分析。本研究为深入认识地下水中DOM的分子组成特征提供了技术与理论支持。

参考文献:

- [1] Bae E, Yeo I J, Jeong B, Shin Y, Shin K H, Kim S. *Anal. Chem.*, **2011**, 83(11): 4193–4199.
- [2] Xu W, Gao A, He C, Shi Q, Hou Z, Zhao H Z. *Environ. Sci. Technol.*, **2020**, 54(20): 12929–12937.
- [3] Li J F, Hua Z C, Qin W L, Chen C Y, Zhu B, Ruan T, Xiang Y Y, Fang J Y. *Water Res.*, **2024**, 262: 122097.
- [4] Fu H Y, Zheng W X, Duan W J, Fang G D, Duan X G, Wang S B, Feng C H, Zhu S S. *Environ. Sci. Technol.*, **2024**, 58(33): 14949–14960.
- [5] Zhou Z Q, Fu Q L, Fujii M, Waite T D. *Environ. Sci. Technol.*, **2023**, 57(11): 4690–4700.
- [6] Cheng Y H, Liu J B, Fujii M, Fu Q L. *Appl. Geochem.*, **2025**, 180: 106292.
- [7] Xue J K, Deng Y M, Fan R Y, Fu Q L, Xu Z L, Wang Y X. *Environ. Sci. Technol.*, **2026**, 60(7): 5699–5710.
- [8] Dittmar T, Koch B, Hertkorn N, Kattner G. *Limnol. Oceanogr. Meth.*, **2008**, 6: 230–235.
- [9] Zhao S L, Li J X, Xue X B, Sun D Y, Liu W J, Zhu C J, Yang Y P, Xie X J. *Chemosphere*, **2023**, 333: 138834.
- [10] Cai S J, Zhou X, Liu Y, Tong Z Y, Xu C, Qu L Y, Li P H, Xiao W P, Guo W D, Huang B Q. *Water Res.*, **2025**, 284: 123996.
- [11] Zhuo X C, He C, Cai R H, Shi Q. *Talanta*, **2024**, 266: 125005.
- [12] Perminova I V, Dubinenkov I V, Kononikhin A S, Konstantinov A I, Zhrebker A Y, Andzhushev M A, Lebedev V A, Bulygina E, Holmes R M, Kostyukevich Y I, Popov I A, Nikolaev E N. *Environ. Sci. Technol.*, **2014**, 48(13): 7461–7468.
- [13] Li Y, Harir M, Uhl J, Kanawati B, Lucio M, Smirnov K S, Koch B P, Schmitt-Kopplin P, Hertkorn N. *Water Res.*, **2017**, 116: 316–323.
- [14] Yvin O M, Kurek M R, McKenna A M, Hawkins J R, Spencer R G M. *Org. Geochem.*, **2024**, 196: 104846.
- [15] HJ164–2020. Technical Specifications for Environmental Monitoring of Groundwater. Ministry of Ecology and Environment of the People's Republic of China(地下水环境监测技术规范. 中华人民共和国生态环境部).
- [16] Fu Q L, Fujii M, Watanabe A, Kwon E. *Anal. Chem.*, **2022**, 94(3): 1717–1725.
- [17] You Q, Cheng Y H, Fu Q L, Cao G D, Liu J B, Fujii M, Blaney L, Fu P Q, Wang Y X. *Anal. Chem.*, **2025**, 97(19): 10442–10451.
- [18] Yang L, Wu S X, Fu Q L. *Environ. Chem.* (杨伦, 吴士希, 付庆龙. 环境化学), **2024**, 42(12): 4059–4071.
- [19] Riedel T, Biester H, Dittmar T. *Environ. Sci. Technol.*, **2012**, 46(8): 4419–4426.
- [20] Ding Y, Shi Z Q, Ye Q T, Liang Y Z, Liu M Q, Dang Z, Wang Y J, Liu C X. *Environ. Sci. Technol.*, **2020**, 54(10): 6174–6184.
- [21] Xi Y, Jing H W, Tao L, Chen J J, XU S S, Guo J, Liu B X, Guo H M, Gao Z P. *Acta Sci. Circumst.* (席玥, 荆红卫, 陶蕾, 陈吉吉, 徐苏士, 郭婧, 刘保献, 郭华明, 高志鹏. 环境科学学报), **2025**, 45(2): 154–165.
- [22] Li F Q, Wei L Z, Liu Y, Deng H M, Cui J L, Wang J Q, Xiao T F. *Sci. Total Environ.*, **2024**, 926: 171960.
- [23] You Q, Fujii M, Fu Q L. *J. Instrum. Anal.* (游芊, 藤井学, 付庆龙. 分析测试学报), **2025**, 44(5): 774–780.
- [24] Zhou Y R, Hao R, Wu Y P, He C, Shi Q, Hu R G. *J. Instrum. Anal.* (周雅茹, 郝荣, 伍玉鹏, 何晨, 史权, 胡荣桂. 分析测试学报), **2023**, 42(3): 283–291.
- [25] Wen Z, Han J, Shang Y, Tao H, Fang C, Lyu L, Li S, Hou J, Liu G, Song K. *Water Res.*, **2024**, 252: 121204.
- [26] Yin S J, Wei C H, Liu Y F, Zhu D Q. *Carbon Res.*, **2025**, 4: 58.
- [27] Gonsior M, Peake B M, Cooper W T, Podgorski D, D'Andrilli J, Cooper W J. *Environ. Sci. Technol.*, **2009**, 43(3): 698–703.
- [28] Wu S, Fujii M, Fu Q. *Carbon Res.*, **2023**, 2(1): 46.

(责任编辑: 丁 岩)