

# 三重四极杆质谱测定水中的 10 种微囊藻毒素

## LCMSMS-081

**摘要:** 本文建立了一种使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 和三重四极杆质谱仪 LCMS-8040 联用测定水中 10 种微囊藻毒素的方法。样品过滤后,用超高效液相色谱 LC-30A 分离,三重四极杆质谱仪 LCMS-8040 外标法进行定量分析。DE-RR 和 RR 在 0.02 ~ 50  $\mu\text{g/L}$  浓度范围内线性良好, NOD、LR、LY、LA 和 LW 在 0.1 ~ 50  $\mu\text{g/L}$  浓度范围内线性良好, YR、WR 和 CF 在 0.5 ~ 50  $\mu\text{g/L}$  浓度范围内线性良好,对 1.0  $\mu\text{g/L}$  和 10 $\mu\text{g/L}$  混合标准溶液连续 6 次进样,2 个浓度标准品的峰面积和保留时间的相对标准偏差分别在 0.843 ~ 9.672% 和 0.077 ~ 0.369% 之间,仪器精密程度良好;同时考察了水空白基质加标结果,结果显示 10 种微囊藻毒素在定量限上均有很好的响应,方法定量限满足《GB 5749-2006 生活饮用水卫生标准》中的要求。

**关键词:** 微囊藻毒素水超高效液相色谱仪三重四极杆质谱仪

微囊藻毒素 (Microcystins, MCS) 是水体中有害蓝藻释放出来的一类次生代谢产物,属于细胞内毒素,细胞死亡后或细胞膜通透性增强时释放入水,具有强致癌作用,迄今已发现 60 多种亚型。微囊藻毒素有很高的耐热性,加热煮沸都不能将毒素破坏也不能将其去除,其严重危害了居民用水安全。

鉴于 MCS 的毒性及危害,我国 2006 年新颁布的《生活饮用水卫生标准》(GB 5749-2006)已将 MCS 列入其中,控制限值为 1.0  $\mu\text{g/L}$ 。目前生活饮用水中的微囊藻毒素的国标检测方法是高效液相色谱法。该法由于前处理繁琐,回收率低,未能满足应对蓝藻水华爆发期快速检测的要求。液相色谱/质谱联用技术是近年发展起来的新技术,其优越性能为建立快速检测的方法提供了可能性。本文使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 和三重四极杆质谱仪 LCMS-8040 联用,建立了快速准确测定水中微囊藻毒素的方法,供相关检测人员参考。

### 实验部分

#### 1.1 仪器

本实验使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 与三重四极杆质谱仪 LCMS-8040 联用系统。具体配置为 LC-30AD $\times$ 2 输液泵, DGU-20A<sub>5</sub> 在线脱气机, SIL-30AC 自动进样器, CTO-30AC 柱温箱, CBM-20A 系统控制器, LCMS-8040 三重四极杆质谱仪, LabSolutions Ver. 5.50 色谱工作站。

#### 1.2 分析条件

##### 液相色谱条件

分析仪器: LC-30A 系统

色谱柱: Shimadzu Shim-pack XR-ODS III

2.0 mmI.D.  $\times$  50mmL., 1.6  $\mu\text{m}$

流动相: A - 0.1% 甲酸水溶液;

B - 0.1% 甲酸乙腈

流速: 0.4 mL/min

进样体积: 20  $\mu\text{L}$

柱温: 40 $^{\circ}\text{C}$

洗脱方式: 梯度洗脱, B 相初始浓度为 30%, 时间程序见表 1。

表 1 梯度洗脱时间程序

Time(min)	B.Con.
1.50	80
4.00	80
4.10	30
5.50	Stop

##### 质谱条件

分析仪器: LCMS-8040

离子源: ESI, 正离子扫描

离子源接口电压: 4.5kV

雾化气: 氮气 3.0 L/min

干燥气: 氮气 15 L/min

碰撞气: 氩气

脱溶剂管温度: 250 $^{\circ}\text{C}$

加热模块温度: 400 $^{\circ}\text{C}$

扫描模式: 多反应监测 (MRM)

Dwell Time: 50ms (分段采集)

延迟时间: 3 ms

MRM 参数: 见表 2

表 2 MRM 参数

编号	名称	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bias(V)	CE(V)	Q3 Pre Bias(V)
1	DE-RR	512.8	135.20*	-26.0	-34.0	-24.0
			103.05	-26.0	-55.0	-18.0
2	RR	519.8	135.20*	-26.0	-36.0	-23.0
			105.00	-26.0	-49.0	-19.0
3	NOD	825.35	135.20*	-32.0	-60.0	-25.0
			227.25	-32.0	-55.0	-24.0
4	YR	1045.45	135.20*	-32.0	-60.0	-25.0
			227.25	-32.0	-55.0	-24.0
5	LR	995.40	135.20*	-38.0	-65.0	-25.0
			213.10	-38.0	-64.0	-21.0
6	WR	1068.45	135.20*	-42.0	-65.0	-24.0
			213.10	-42.0	-64.0	-21.0
7	LA	910.35	135.20*	-34.0	-60.0	-24.0
			213.10	-34.0	-52.0	-22.0
8	LY	1002.40	135.20*	-38.0	-59.0	-24.0
			446.15	-38.0	-39.0	-30.0
9	LW	1025.40	135.20*	-40.0	-62.0	-25.0
			213.10	-40.0	-59.0	-22.0
10	LF	986.40	135.20*	-38.0	-60.0	-24.0
			375.20	-38.0	-40.0	-26.0

\* 表示定量离子

### 1.3 样品制备

标准溶液配制:

取适量单标储备液,用水配制成 100 µg/L 的混合标准溶液,用水逐级稀释成浓度为 50, 10, 5, 1, 0.5, 0.1, 0.05 和 0.02 µg/L 的标准工作液。

样品前处理方法: 水样经 0.22 µm 滤膜过滤后上机测试。

## 结果讨论

### 2.1 标准样品的 MRM 色谱图

1.0 µg/L 混合标准样品的 MRM 色谱如图 1 所示。

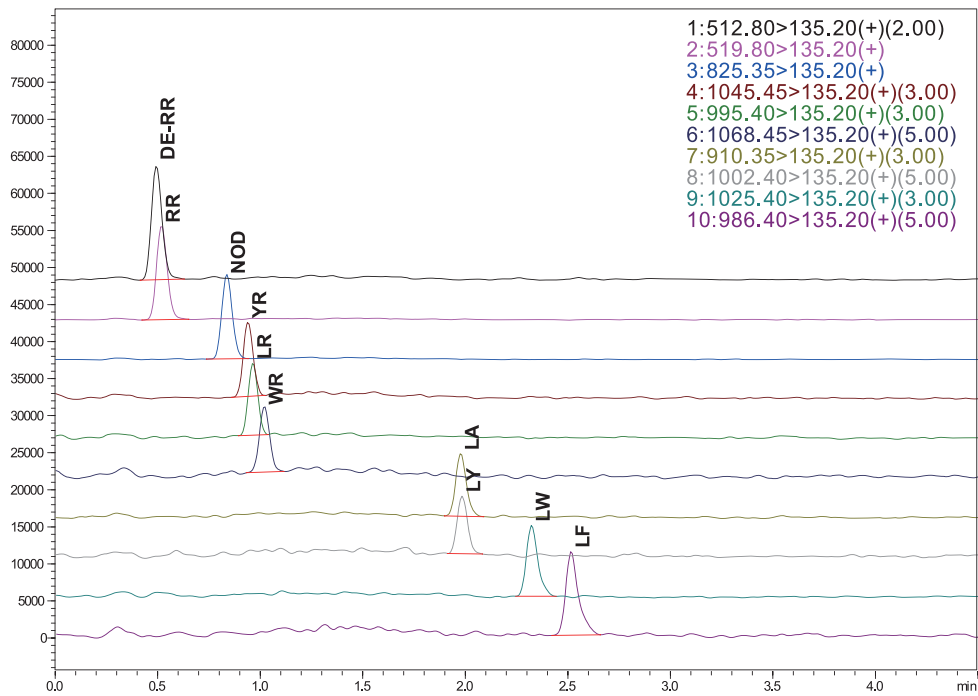


图 1 1.0µg/L 混合标准样品的 MRM 色谱图

## 2.2 标准样品的扫描色谱图

10 种微囊藻毒素标准品的扫描色谱图 (Q3 SCAN, ESI+) 如下所示。

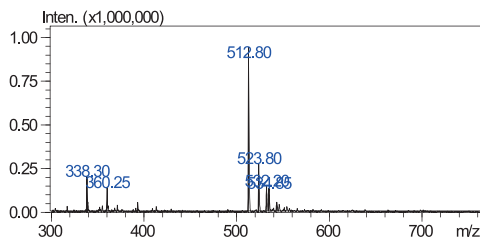


图 2 DE-RR 的扫描色谱图

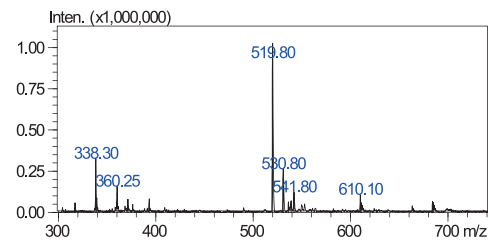


图 3 RR 的扫描色谱图

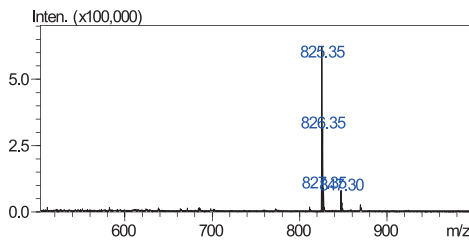


图 4 NOD 的扫描色谱图

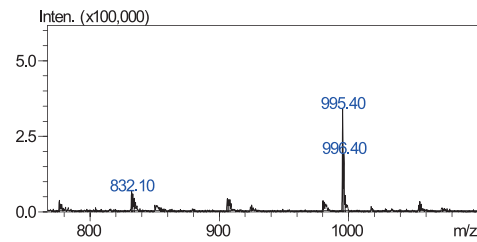


图 5 LR 的扫描色谱图

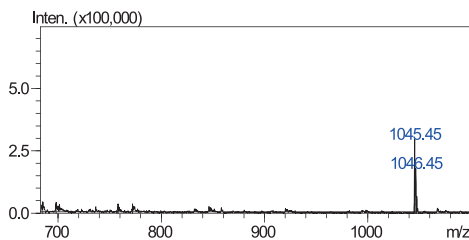


图 6 YR 的扫描色谱图

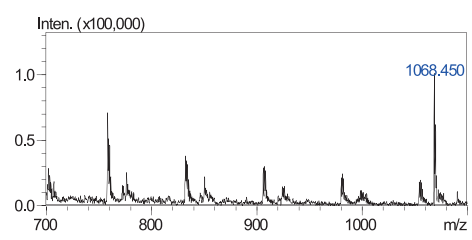


图 7 WR 的扫描色谱图

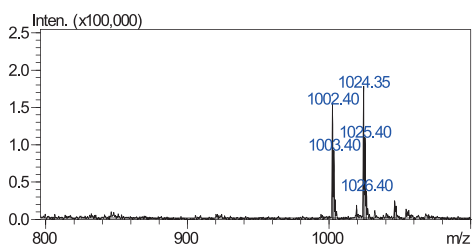


图 8 LY 的扫描色谱图

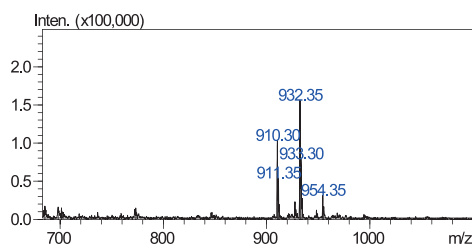


图 9 LA 的扫描色谱图

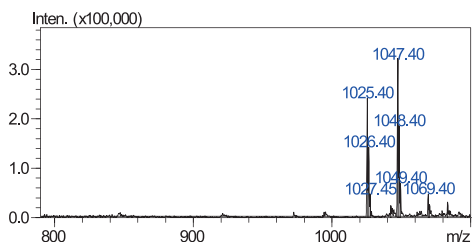


图 10 LW 的扫描色谱图

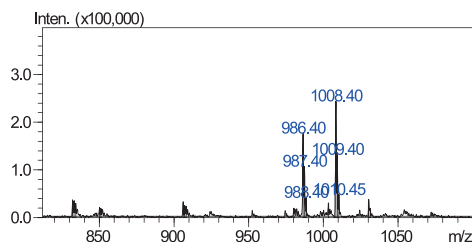


图 11 LF 的扫描色谱图

### 2.3 线性关系

将浓度为 50, 10, 5, 1, 0.5, 0.1, 0.05 和 0.02  $\mu\text{g/L}$  的混合标准工作液按 1.2 中的分析条件进行测定, 以浓度为横坐标, 峰面积为纵坐标, 外标法制作校准曲线, 如图 12~21 所示。10 种微囊藻毒素在一定浓度范围内线性良好。线性方程、线性范围、相关系数及由软件计算得检出限和定量限见表 3。

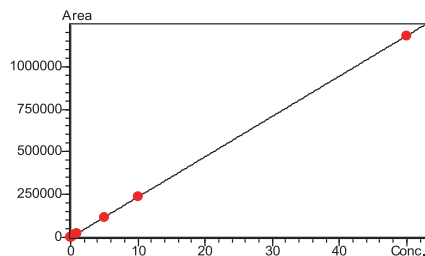


图 12 DE-RR 的标准工作曲线

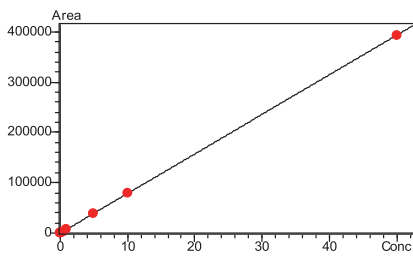


图 13 RR 的标准工作曲线

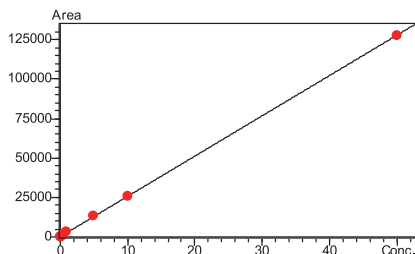


图 14 NOD 的标准工作曲线

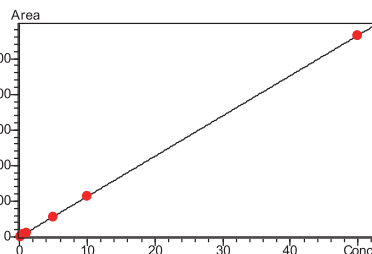


图 15 LR 的标准工作曲线

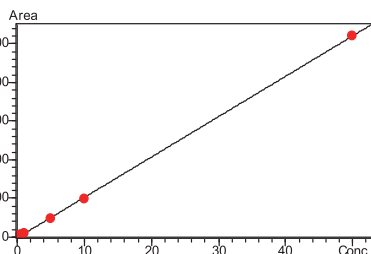


图 16 YR 的标准工作曲线

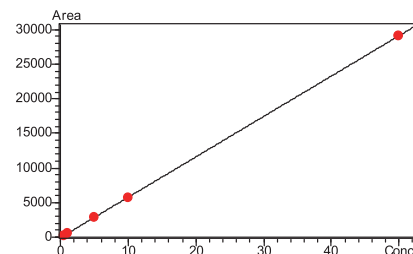


图 17 WR 的标准工作曲线

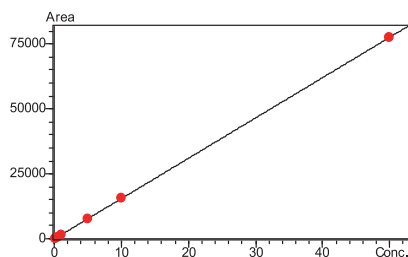


图 18 LY 的标准工作曲线

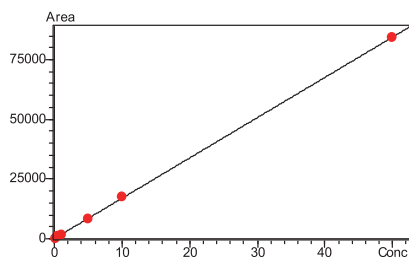


图 19 LA 的标准工作曲线

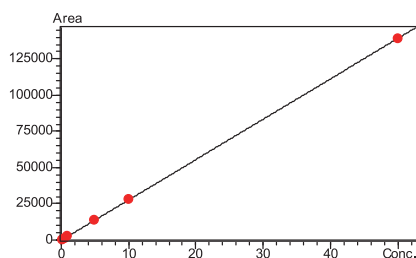


图 20 LW 的标准工作曲线

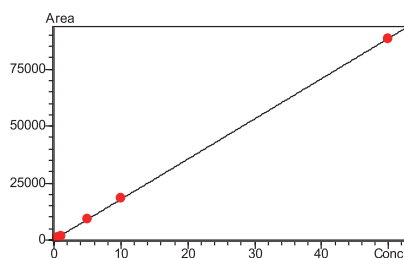


图 21 LF 的标准工作曲线

表 3 10 种微囊藻毒素的校准曲线参数

No.	名称	校准曲线	相关系数 r	线性范围 ( $\mu\text{g/L}$ )	检出限 ( $\mu\text{g/kg}$ )	定量限 ( $\mu\text{g/kg}$ )
1	DE-RR	$Y = (23620.7)X + (-713.367)$	0.9999	0.02-50	0.0066	0.0200
2	RR	$Y = (7876.04)X + (-306.677)$	0.9999	0.02-50	0.0018	0.0055
3	NOD	$Y = (2554.31)X + (139.085)$	0.9999	0.1-50	0.0006	0.0017
4	LR	$Y = (1130.75)X + (0.304781)$	0.9999	0.1-50	0.0325	0.0984
5	YR	$Y = (1045.52)X + (-179.194)$	0.9999	0.5-50	0.0362	0.1098
6	WR	$Y = (583.910)X + (-77.2702)$	0.9999	0.5-50	0.0215	0.0653
7	LY	$Y = (1555.45)X + (-106.796)$	0.9999	0.1-50	0.0084	0.0256
8	LA	$Y = (1688.33)X + (70.7246)$	0.9999	0.1-50	0.0262	0.0795
9	LW	$Y = (2787.07)X + (-231.222)$	0.9999	0.1-50	0.0146	0.0443
10	LF	$Y = (1767.59)X + (165.616)$	0.9999	0.5-50	0.0252	0.0763

#### 2.4 精密度实验

对 1.0  $\mu\text{g/L}$  和 10 $\mu\text{g/L}$  混合标准溶液连续 6 次进样, 2 个浓度标准品的峰面积和保留时间的相对标准偏差分别在 0.843~9.672% 和 0.077~0.369% 之间, 仪器精密度良好。

表 4 保留时间和峰面积重复性结果 (n=6)

样品名称	RSD% (1.0 $\mu\text{g/L}$ )		RSD% (10 $\mu\text{g/L}$ )	
	Area	R.T	Area	R.T
DE-RR	1.599	0.369	0.843	0.183
RR	3.965	0.307	1.627	0.215
NOD	4.735	0.134	1.387	0.120
YR	4.882	0.262	4.548	0.147
LR	4.811	0.132	4.315	0.162
WR	9.672	0.196	4.947	0.156
LA	4.310	0.098	2.911	0.091

LY	2.810	0.145	1.055	0.125
LW	4.586	0.077	2.764	0.091
LF	4.417	0.245	4.987	0.079

### 2.5 仪器灵敏度考察

为了考察方法的灵敏度，以空白水样配制加标溶液，其中 DE-RR 和 RR 加标浓度为 0.02  $\mu\text{g/L}$ ；其他样品加标浓度为 0.1  $\mu\text{g/L}$ ，得到色谱图如图 22-31 所示。从图中可以看到，基质加标样品在定量限上均有很好的响应，满足《GB 5749-2006 生活饮用水卫生标准》中的要求。

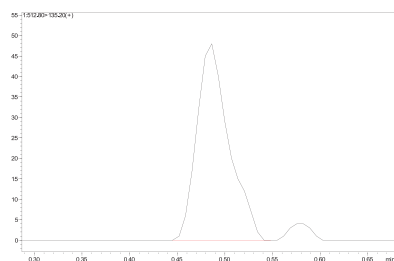


图 22 0.02 $\mu\text{g/L}$  DE-RR 的色谱图

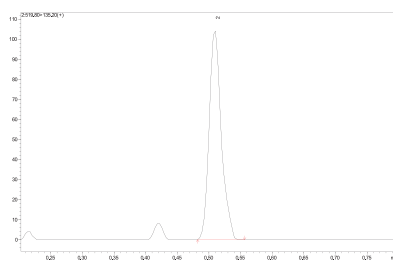


图 23 0.02 $\mu\text{g/L}$  RR 的色谱图

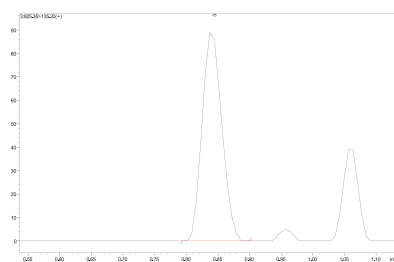


图 24 0.1 $\mu\text{g/L}$  NOD 的色谱图

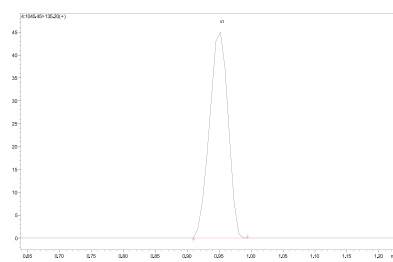


图 25 0.1 $\mu\text{g/L}$  25 YR 的色谱图

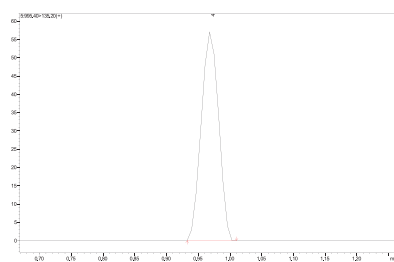


图 26 0.1 $\mu\text{g/L}$  LR 的色谱图

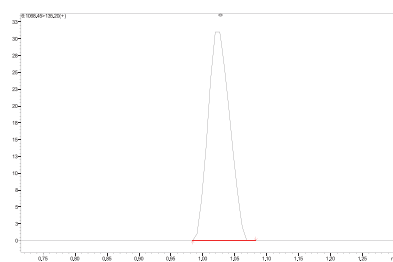


图 27 0.1 $\mu\text{g/L}$  WR 的色谱图

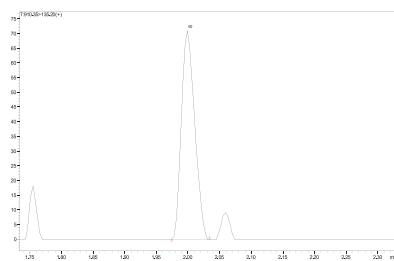


图 28 0.1 $\mu\text{g/L}$  LA 的色谱图

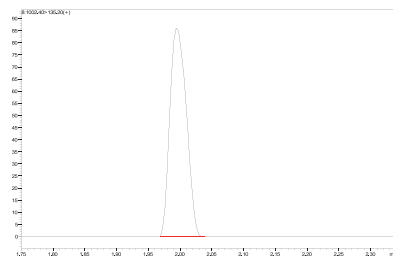


图 29 0.1 $\mu\text{g/L}$  LY 的色谱图

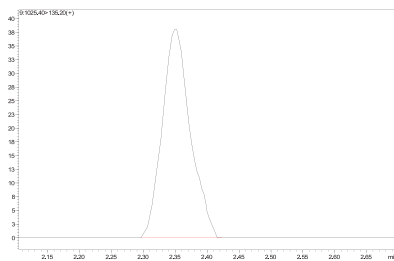


图 30 0.1 $\mu\text{g/L}$  LW 的色谱图

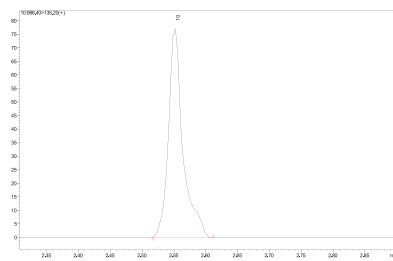


图 31 0.1 $\mu\text{g/L}$  LF 的色谱图

## 2.6 水样分析

水样取自家用自来水，样品经滤膜过滤后直接进样测试。测试结果显示未检出 10 种微囊藻毒素。

### ■ 结论

建立了使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 和三重四极杆质谱仪 LCMS-8040 联用测定水中 10 种微囊藻毒素的方法。该方法分析速度快，重复性和精密度良好；DE-RR 和 RR 在 0.02 ~ 50  $\mu\text{g/L}$  浓度范围内线性良好，NOD、LR、LY、LA 和 LW 在 0.1 ~ 50  $\mu\text{g/L}$  浓度范围内线性良好，YR、WR 和 CF 在 0.5 ~ 50  $\mu\text{g/L}$  浓度范围内线性良好，所有样品的标准曲线的相关系数均在 0.999 以上；方法定量限满足《GB 5749-2006 生活饮用水卫生标准》中的要求。