

· 监测技术 ·

海河流域地表水中微囊藻毒素的测定

张俊, 孟宪智, 张世禄, 王乙震, 贺君钰

(生态环境部海河流域北海海域生态环境监督管理局生态环境监测与科学研究中心, 天津 300170)

摘要:水样酸化过滤后用 Oasis HLB 固相萃取小柱净化富集, 采用液相色谱-串联质谱法同时测定地表水中微囊藻毒素(MC-LR 和 MC-RR), 通过优化试验条件, 使方法在 $1.00 \mu\text{g/L} \sim 100 \mu\text{g/L}$ 范围内线性良好。MC-LR 和 MC-RR 在水中的方法检出限为 0.12 ng/L 和 0.2 ng/L , 空白加标回收率为 $72.7\% \sim 88.5\%$, 3 次测定结果的 RSD 为 $9.1\% \sim 10.7\%$ 。将该方法用于 6 个海河流域部分重要水源地水样的监测, 虽然部分水样中检测出 MC-LR 和 MC-RR, 但检出值均低于标准限值。

关键词:微囊藻毒素; 固相萃取; 液相色谱-串联质谱法; 地表水; 海河流域

中图分类号: O657.63

文献标志码: B

文章编号: 1006-2009(2019)05-0040-03

Determination of Microcystins in Surface Water in Haihe River Basin

ZHANG Jun, MENG Xian-zhi, ZHANG Shi-lu, WANG Yi-zhen, HE Jun-yu

(Center of Monitoring and Scientific Research of Ecology and Environment, Administration of Ecology and Environment of Haihe River Basin and Beihai Area, Ministry of Ecology and Environment of People's Republic of China, Tianjin 300170, China)

Abstract: After acidification and filtration, the water samples were purified and enriched by Oasis HLB solid phase extraction column, microcystins(MC-LR and MC-RR) in surface water were simultaneously determined by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. By optimizing the experimental conditions, the method had good linearity in the range of $1.00 \mu\text{g/L}$ to $100 \mu\text{g/L}$. The detection limits of MC-LR and MC-RR were 0.12 ng/L and 0.2 ng/L . The recoveries of blank standard addition were $72.7\% \sim 88.5\%$. The RSDs of three repeated measurements were $9.1\% \sim 10.7\%$. The method was applied to the water samples from six important water sources in Haihe river basins. Although MC-LR and MC-RR were detected in some samples, measurements were lower than the standard limits.

Key words: Microcystins; Solid phase extraction; Liquid chromatography-tandem mass spectrometry; Haihe river basin; Surface water

蓝藻水华已经成为全球广泛关注的环境问题, 而藻类代谢后的毒素对人体健康造成严重威胁^[1-4]。目前, 水体中微囊藻毒素的危害已经受到极大关注。世界卫生组织(WHO)制定的饮用水水质标准中, 微囊藻毒素标准限值为 $1.0 \mu\text{g/L}$ ^[5], 与我国《生活饮用水卫生标准》(GB 5749—2006)规定相同^[6]。微囊藻毒素在水中具有极强的化学稳定性, 温水或冷水中都能存活, 甚至在沸水中也能保留毒性^[7]。水体中的微囊藻毒素在藻细胞破裂后被释放出来, 长期暴露会对人的肝脏造成损伤,

饮水中微量微囊藻毒素与人群中原发性肝癌的发病率有很大相关性, 长期饮用含微囊藻毒素的水可能会引发肝癌^[8]。水体中高浓度微囊藻毒素可影响水生植物种群的多样性, 也可使鱼卵变异、鱼类

收稿日期: 2018-07-20; 修订日期: 2019-07-11

基金项目: 长江水利委员会长江科学院开放研究基金资助项目(CKWV2018495/KY); 国家国际科技合作专项基金资助项目(2013DFA71340); 海河流域水质监测基金资助项目(126204012002170001)

作者简介: 张俊(1981—), 男, 安徽安庆人, 高级工程师, 博士, 主要从事水生态环境监测评价工作。

生长异常^[9]。Hernandez 等^[10]认为随着富营养化程度加剧,蓝藻不断爆发,微囊藻毒素势必更大程度危害人类的健康。高效液相色谱-质谱联用技术已成为微囊藻毒素检测主流技术^[11-13],今通过优化固相萃取前处理和仪器条件,建立固相萃取-液相色谱-串联质谱法同时测定地表水中 MC-LR 和 MC-RR 的分析方法,并对海河流域东北部 6 个水库型水源地微囊藻毒素开展初步研究工作。

1 试验

1.1 主要仪器与试剂

Agilent 1260A 型液相色谱,串联 6410B 型质谱三重四级杆质谱,美国 Agilent 公司;Symmetry C₁₈ 色谱柱(150 mm×2.1 mm,3.5 μm),Oasis HLB 固相萃取柱(500 mg/6 mL),美国 Water 公司;GL Science 799 型全自动固相萃取仪,日本岛津公司;威立雅公司 Purelab flex 纯水机。

10.0 mg/L 的 MC-LR 和 MC-RR 标准溶液,美国 Sigma 公司;甲醇、甲酸(色谱级),J. T. Baker 公司;自制去离子水,电阻率为 $1.82 \times 10^3 \text{ M}\Omega \cdot \text{m}$ 。

1.2 样品采集与前处理

研究区位于海河流域东北部,主要包括滦河流域下游、冀东沿海地区及引滦入津沿线。该研究区在海河流域属于水质相对较好区域,多个水库型水源地承担天津、唐山、秦皇岛等大中型城市供水任务。在 2017 年夏季,采集该区域内潘家口水库、大黑汀水库、于桥水库、桃林口水库、洋河水库、石河水库等 6 个水库水样,采集样点均位于坝前开阔区域。用不锈钢水质采样器进行样品采集,样品采集后置于 1 L 棕色玻璃瓶中,密闭冷藏保存,及时萃取并检测。

取 500 mL 水样用甲酸酸化至 pH 值为 4,过 0.45 μm 硝酸纤维滤膜,去除样品中的悬浮颗粒物。分别用 5 mL 甲醇和 5 mL 水活化 Oasis HLB 柱,在真空泵的作用下,使待测溶液以稳定速度通过小柱,流速为 1 滴/s~2 滴/s。用 5 mL 纯水清洗固相萃取柱,干燥柱子 10 min。用 6 mL 甲醇洗脱,洗脱液在微弱氮气流下吹至近干,用体积分数为 20% 的甲醇水溶液定容至 1 mL,待测。

1.3 仪器条件

色谱柱采用 Water 公司 Symmetry C₁₈ 柱,流动相为体积分数 0.1% 的甲酸水溶液(A)和甲醇(B),柱温 25 ℃,流量 0.2 mL/min,进样体积

10 μL。梯度洗脱程序为:0 min~8 min,φ(B)为 20%→80%;8 min~10 min,φ(B)为 80%;10 min~12 min,φ(B)为 80%→20%;12 min~25 min,φ(B)为 20%。电喷雾离子源;正离子扫描;锥孔气为氮气(液氮罐供气);碰撞气为高纯氮气;参数优化方式为 SCAN 模式和 Productor 模式;检测方式为 MRM 模式。

2 结果与讨论

2.1 前处理过程回收率

对前处理过程做两个质量水平的加标回收试验,500 mL 空白水样加标后浓缩到 1 mL,分别计算目标物的回收率和 RSD。结果表明,当加标量为 10 ng 时,MC-LR 和 MC-RR 的回收率分别为 85.6% 和 73.5%,3 次测定结果的 RSD 分别为 9.6% 和 10.1%;当加标量为 100 ng 时,MC-LR 和 MC-RR 的回收率分别为 88.5% 和 72.7%,3 次测定结果的 RSD 分别为 10.7% 和 9.1%。

2.2 质谱条件优化

配制 MC-LR 和 MC-RR 100 μg/L 的标准混合溶液,过滤后用 SCAN 模式进行一级质谱分析,得到 $[M+H]^+$ 分子离子峰,优化碎裂电压(Fragmentor 值),然后利用 Productor 模式对二级质谱的碰撞能进行优化,进而确定 MRM 模式下每个 transition 的条件,见表 1。最优仪器条件下的标准溶液(0.100 mg/L)总离子流见图 1(a)(b)。

表 1 仪器条件

化合物	母离子 质荷比	子离子 质荷比	碎裂电压 U/V	碰撞能量 E/eV
MC-LR	995.5	134.9	160	75
MC-RR	519.9	134.9	160	35

2.3 标准曲线与方法检出限

MC-LR 和 MC-RR 标准溶液用体积分数为 20% 的甲醇水溶液稀释成 1.00 mg/L 混合标准液,并配制成 1.00 μg/L、5.00 μg/L、10.0 μg/L、50.0 μg/L、100 μg/L 的标准系列,各质量浓度样品连续进样 6 次,峰面积相对标准偏差(RSD)均<4%,重现性好。以质量浓度为横坐标,对应的峰面积响应值为纵坐标,绘制标准曲线,得到 MC-LR 和 MC-RR 的回归方程分别为 $Y=42.0X+26.4$, $Y=346X+157$,标准曲线的线性关系较好,相关系数

分别为 0.999 5 和 0.999 1。采用 3 倍信噪比 (S/N) 计算, MC-LR 和 MC-RR 的仪器检出限分别为 0.06 $\mu\text{g/L}$ 和 0.1 $\mu\text{g/L}$ 。试验结果表明, 环境水样中的方法检出限为 0.12 ng/L 和 0.2 ng/L 。

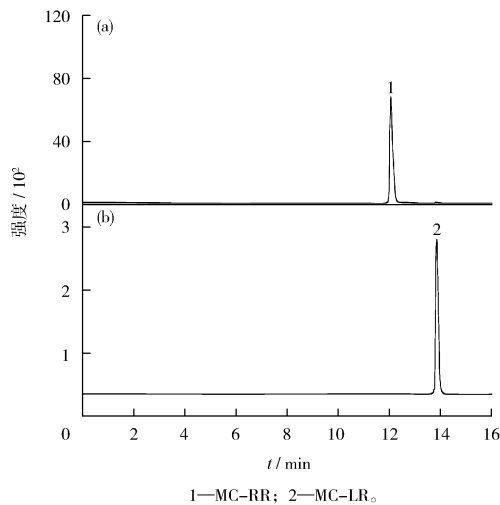


图 1 标准溶液总离子流

Fig. 1 Total ion current in standard solution

2.4 实际样品测定

2017 年夏季在海河流域东北部地区水源地 6 个水库采集水样, 用上述方法测定微囊藻毒素, 平行测定 3 次, 结果见表 2。

表 2 实际水样测定结果						ng/L
Table 2 Results of actual water samples						ng/L
目标物	潘家口 水库	大黑汀 水库	于桥 水库	洋河 水库	桃林口 水库	石河 水库
MC-LR	—	—	57.9	35.4	—	—
MC-RR	—	—	41.3	28.9	—	—

由表 2 可知, 于桥水库和洋河水库水样中 MC-RR 和 MC-LR 均有检出, 虽低于《生活饮用水卫生标准》(GB 5749—2006) 中的限值, 但明显高于最近报道的环巢湖湖面水样 MC-RR 和 MC-LR 的测定值^[14]。

3 结语

建立了固相萃取-液相色谱-串联质谱法同时测定水中 MC-LR 和 MC-RR 的分析方法, 该方法具有检出限低、准确度高等特点。海河流域几个重要水源地水样测定结果表明: 部分样品 MC-RR 和 MC-LR 均有检出, 虽然所有实际水样测定

值均不超过生活饮用水标准限值, 但有必要对水源地进行周期性持续监测, 在藻华期间和藻华后开展加密监测, 保障水源地供水安全。

[参考文献]

[1] GURBUZ F, UZUNMEHMETOGLU O Y, DILER O, et al. Occurrence of microcystins in water, bloom, sediment and fish from a public water supply [J]. Science of Total Environment, 2016, 562:860-868.

[2] SU X M, STEINMAN A D, XUE Q J, et al. Evaluating the contamination of microcystins in lake Taihu, China; The application of equivalent total MC-LR concentration [J]. Ecological Indicators, 2018, 89:445-454.

[3] PHAM T, UTSUMI M. An overview of the accumulation of microcystins in aquatic ecosystems [J]. Journal of Environmental Management, 2018, 213:520-529.

[4] 张明, 唐访良, 徐建芬, 等. 杭州贴沙河微囊藻毒素污染特征及健康风险评估 [J]. 环境监测管理与技术, 2016, 28(1): 27-31.

[5] World Health Organization. Guidelines for drinking-water quality [M]. Geneva: World Health Organization, 2017.

[6] 中华人民共和国卫生部, 中国国家标准化管理委员会. GB 5749—2006 生活饮用水卫生标准[S]. 北京: 中国标准出版社, 2006.

[7] MERKEBRI A, BLONDINA G J, CRANE D B. Method validation of microcystins in water and tissue by enhanced liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. Journal of Chromatography A, 2009, 1216:3147-3155.

[8] GEOFFREY A C, LOUISE F M, JAMES S M. Cyanobacterial toxins; Risk management for health protection [J]. Toxicology and Applied Pharmacology, 2005, 203(3):264-272.

[9] PICHARDO S, JOS A, ZURITA J L, et al. The use of the fish cell lines RTG-2 and PLHC-1 to compare the toxic effects produced by microcystins LR and RR [J]. Toxicol In Vitro, 2005, 19(7):865-873.

[10] HERNANDEZ J M, RODAS V L, COSTAS E. Microcystins from tap water could be a risk factor for liver and colorectal cancer; A risk intensified by global change [J]. Medical Hypotheses, 2009, 72:539-540.

[11] 金静, 刘小真. 水环境中微囊藻毒素分析技术进展 [J]. 环境科学与技术, 2007, 30(11):111-114.

[12] 姚玉玲, 蒋文菁, 屈秋, 等. 地表水和饮用水中微囊藻毒素检测方法的进展 [J]. 现代科学仪器, 2008(5):86-90.

[13] 茅海琼, 翁燕波, 傅晓钦, 等. 超高效液相色谱-电喷雾串联四级杆质谱法快速分析水中微囊藻毒素 LR [J]. 中国环境监测, 2009, 25(6):19-22.

[14] 赵彬, 王昭, 张敏, 等. 超高效液相色谱/串联质谱法测定饮用水源水中多种藻毒素 [J]. 环境监测管理与技术, 2018, 30(1):54-57.