

## 关键词

全自动固相萃取；高校液相色谱-串联质谱；微囊藻毒素

## 介绍

随着工业化进程的加快，人类在工农业生产过程中，向水体排入大量的含氮、磷的污染物，加速了水体的富营养。水体富营养化的一大表现就是藻类的大量繁殖，而藻类能释放的生物毒素-藻毒素，严重危害人类和其他生物的安全。其中的微囊藻毒素LR是目前已知毒性最强、危害最大的一种淡水蓝藻毒素。它是一种肝毒素、是肝癌的促癌剂，长期饮用此水可能引发肝癌，所以对生活饮用水中的微囊藻毒素进行监测极为重要。

本文依据《GB/T 20466-2006 水中微囊藻毒素的测定》采用睿科ASPE Ultra 06全自动固相萃取仪完成水中微囊藻毒素的富集、洗脱和氮吹浓缩，再结合高校液相色谱-串联质谱进行定性定量检测。在0.1 μg/L的加标水平下，3种微囊藻毒素的回收率在84.4%-99.6%之间，RSD值小于10%，表明该方法具有操作自动化、准确度和精密度高等优点，适合饮用水和地表水中微囊藻毒素的测定。

## 1. 仪器与耗材

### 仪器和耗材

睿科 ASPE Ultra 系列全自动固相萃取仪；  
 睿科 Auto Prep 200 全自动液体处理工作站；  
 Agilent 1290+6470 三重四级杆串联质谱仪；  
 固相萃取柱：C<sub>18</sub> (RayCure, 500mg/6mL, 货号：RC-204-16004)；  
 气相色谱柱：HP-5 气相色谱柱 (30m×0.25mm×0.25 μm)

### 试剂

甲醇 (HPLC)；三氟乙酸 (AR)；水：超纯水，电阻率大于 18.2MΩ；20%甲醇水溶液：20mL 甲醇与 80mL 水混合；0.1%三氟乙酸甲醇溶液：取 0.1mL 三氟乙酸用甲醇定容至 100mL；  
 标准物质：微囊藻毒素-LR，微囊藻毒素-RR，微囊藻毒素-YR 纯度不低于 95%

## 2. 样品前处理

### 标准曲线配制

将 100 μg/L 的微囊藻毒素标准使用液取出，50 μg/L 的标准系列，也可根据仪器灵敏度或目标物浓度配制。  
 用 50%甲醇水作定容液，于室温平衡后用 AP200 配制浓度为 2 μg/L, 5 μg/L, 10 μg/L, 20 μg/L,



图-1 Auto Prep 200 的液体配标程序

### 样品采集与保存

采集自来水水样时，先打开自来水放水约 2 min，调节水流量至 500mL/min，用采样瓶采集水样，封好采样瓶。样品送到实验室后，加入约 40-50mg 亚硫酸钠去除余氯（在加酸调 pH 前必须脱氯），放于冰箱中 4° C 保存。样品如果有杂质，

要经过 0.45 μm 孔径的滤膜过滤，所有样品必须在采集后 14 天之内进行固相萃取，萃取液装于密闭玻璃瓶，要避光并储存于 4°C 以下，并在萃取后 30 天内完成分析，要求每批样品要带一个现场空白。

### 样品富集与净化

活化：分别用 10mL 甲醇和 10mL 水以 5mL/min 的速度活化；

吸附：取 1000mL 水样以 10mL/min 的速度通过固相萃取柱；

淋洗：依次用 10mL 水，10mL 20%甲醇水溶液淋洗固相萃取柱；

洗脱：用 10mL 0.1%三氟乙酸甲醇溶液洗脱固相萃取柱；

浓缩：用氮气在 40° C 的条件下将 10mL 洗脱液浓缩至干。

具体方法参数如图-2 所示：

命令	溶剂	排出	流速 (mL/min)	体积 (mL)	时间 (min)
活化	甲醇	废溶	5	10	
活化	水	废水	5	10	
正置上样		废水	10	1020	
淋洗	水	废水	10	10	
淋洗	20%甲醇水	废溶	10	10	
气推		废水	80	20	
干燥	氮气			30	1200
清洗注射泵	0.1%三氟乙酸甲醇			5	
洗脱	0.1%三氟乙酸甲醇	收集1	1	10	
气推		收集1	10	10	
浓缩				40	1800
结束					

图-2 ASPE Ultra 06 水中微囊藻毒素的固相萃取方法

## 3. 检测条件

### 色谱条件

色谱柱：Agilent EC-C<sub>18</sub> (3.0×50 mm, 2.7 μm)；洗脱梯度：A相：纯水；B相：0.1%甲酸乙腈

表-1 梯度洗脱程序

时间 (min)	A(%)	B(%)
0.01	60	40
4	60	40
5	45	45
5.01	0	100
7.5	0	100
7.51	60	40
10	60	40

质谱条件

采集模式	ESI+
干燥气温度	350°C
干燥气流量	10L/min
雾化器压力	15psi
毛细管电压	4000V

监测离子参数情况见表 2:

表-2 3 种微囊藻毒素的特征离子参考质谱条件

Compound Name	Precursor Ion	Product Ion	Dwell	Fragmentor	Collision Energy
微囊藻毒素-LR	995.5	134.8*	110	60	90
		212.9	110	60	70
微囊藻毒素-YR	1045.5	135.1*	110	300	90
		212.6	110	300	80
微囊藻毒素-RR	519.8	134.8*	110	160	50
		102.9	110	160	70

总离子流图

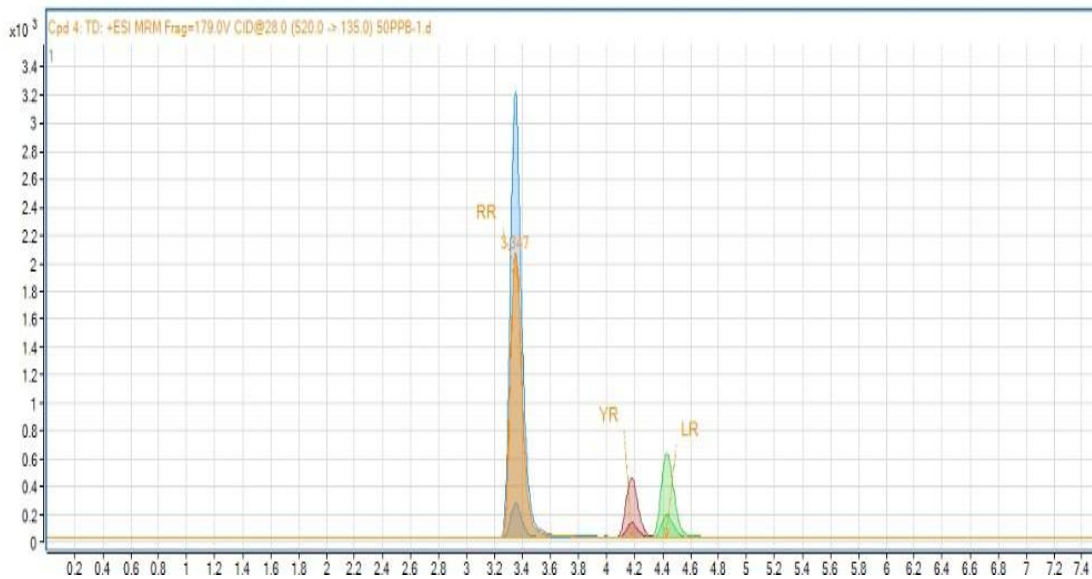


图-3 微囊藻毒素色谱图 (50 μg/L)

4. 方法可行性验证

为了验证该方法的回收率，本实验向自来水 (1000mL) 中加入上述微囊藻毒素的标准品 (100 μL, 1 μg/mL) 进行加标回收验证 (n=3)。在 0.1

μg/L 的加标水平下，三种化合物的回收率在 84.4%-99.6%之间，相对标准偏差小于 10.0%，满足标准要求。

表-3 三种微囊藻毒素标准添加 (0.1  $\mu\text{g/L}$ ) 回收率

编号	化合物名称	R <sub>1</sub> (%)	R <sub>2</sub> (%)	R <sub>3</sub> (%)	Avg (%)	RSD (%)
1	MCs-LR	99.6	89.2	93.4	94.1	5.2
2	MCs-RR	84.4	91.6	96.4	90.8	6.1
3	MCs-YR	87.8	89.1	97.9	91.6	5.5

## 5. 结果与讨论

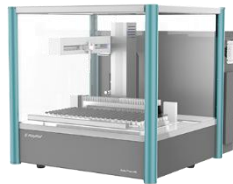
采用三重四级杆质谱作为检测器相较于《GB/T 20466-2006 水中微囊藻毒素的测定》中的纯液相

法具有更高的方法灵敏度和更好的抗干扰能力。

## 6. 总结

本实验采用睿科ASPE Ultra 06全自动固相萃取仪进行水样的富集、洗脱和浓缩，整个流程自动完成，无需过多的人工干预，并取得了比较理想的回收率和RSD结果。采用高精度的注射泵来控制活化、

上样、淋洗和洗脱过程的流速，从而避免了手动固相萃取装置无法准确控制流速的缺点，因此确保了整个实验有较好的准确度和精密度。



全自动液体样品处理工作站  
标曲配制



全自动固相萃取仪  
净化



睿科集团股份有限公司  
RayKol Group Corp., Ltd.

## 智能化、自动化实验室整体解决方案

网址: [www.raykol.com](http://www.raykol.com)

电话: 400-885-1816

邮箱: [info@raykol.com](mailto:info@raykol.com)



本文中的信息、说明和技术指标如有变更,恕不另行通知

© 睿科集团股份有限公司

2021年8月版