

# DB34

安 徽 省 地 方 标 准

DB 34/T 3300—2018

---

## 生活饮用水源水中 11 种藻毒素的测定 高效液相色谱串联质谱法

Determination of 11 kinds of algal toxins of drinking water source HPLC/MS/MS  
method

2018 - 12 - 29 发布

2019 - 01 - 29 实施

---

安徽省市场监督管理局 发布



## 前 言

本标准按照 GB/T 1.1-2009 给出的规则起草。

本标准由安徽省环境监测中心站提出。

本标准由安徽省动植物检验检疫标准化技术委员会归口。

本标准起草单位：安徽省环境监测中心站、安徽省检验检疫科学技术研究院

本标准主要起草人：赵彬、张付海、张敏、王昭、丁磊、胡雅琴、唐晓菲、田丙正、朱超、王鑫、杨晓冉、郑平。



# 生活饮用水源水中 11 种藻毒素的测定 高效液相色谱串联质谱法

## 1 范围

本标准规定了生活饮用水源水中11种藻毒素的高效液相色谱-串联质谱法。

本标准适用于城乡集中式生活饮用水和分散式生活饮用水源水中 9 种微囊藻毒素 (MCs, 包括 MC-RR、MC-YR、MC-HtyR、MC-LR、MC-WR、MC-LA、MC-LY、MC-LW和MC-LF)、一种节球藻毒素 (NOD) 和一种拟柱胞藻毒素 (CYN) 共 11 种藻毒素的测定。

## 2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件, 仅所注日期的版本适用于本文件。凡是不注日期的引用文件, 其最新版本 (包括所有的修改单) 适用于本文件。

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

HJ/T 91 地表水和污水监测技术规范

HJ/T 164 地下水环境监测技术规范

## 3 方法原理

水中藻毒素经固相萃取柱富集、净化后, 用甲醇甲酸溶液洗脱, 高效液相色谱串联质谱法测定, 外标法定量。

## 4 试剂和材料

除另有说明外, 所用试剂均为分析纯, 水为符合 GB/T 6682 规定的一级水。

4.1 乙腈 ( $C_2H_5N$ ): 色谱纯。

4.2 甲醇 ( $CH_3OH$ ): 色谱纯。

4.3 甲酸 ( $CH_2O_2$ ): 色谱纯。

4.4 洗脱液: 甲醇-0.2%甲酸水溶液 (9/1, V/V)。

——取 0.2 ml 甲酸 (4.3) 用水稀释至 100 ml, 再加入 900 ml 甲醇 (4.2), 混匀。

4.5 盐酸 (HCl):  $\rho$  (HCl) = 1.19 g/ml 优级纯。

4.6 氢氧化钠 (NaOH): 优级纯。

4.7 盐酸 (1+1) 溶液:

——用盐酸 (4.5) 和实验用水按体积比 1:1 配制。

4.8 氢氧化钠溶液:  $\rho$  (NaOH) = 0.05 g/mL。

——取 50 g 氢氧化钠 (4.5) 溶于少量水中, 稀释至 1 L。

4.9 无水硫酸钠 ( $Na_2SO_4$ ): 优级纯。

——在 400℃ 下灼烧 4 h, 冷却后装入磨口玻璃瓶中, 置于干燥器中保存。

4.10 抗坏血酸 ( $C_6H_8O_6$ )。

- 4.11 固相萃取柱：填料为二乙烯苯和 N-乙烯基吡咯烷酮共聚物（HLB）或同等柱效的萃取柱，规格为 6 mL/500 mg。
- 4.12 11 种藻毒素标准物质：纯度  $\geq 95\%$ 。
- 4.13 标准物质储备溶液
- 分别称取适量（精确至 10 mg）标准物质（4.9）于 10 mL 容量瓶中，用乙腈配制成浓度为 10 mg/L 的标准储备溶液。
  - 在 0℃-4℃ 冰箱中可以保存 12 个月。
- 4.14 有机滤膜：0.22  $\mu\text{m}$  或其它等效滤膜。
- 4.15 氮气（N<sub>2</sub>）：纯度  $\geq 99.99\%$ 。

## 5 仪器和设备

- 5.1 液相色谱-质谱/质谱仪：配有电喷雾离子源（ESI）。
- 5.2 采样瓶：1 L 或 2 L 具塞棕色磨口玻璃瓶。
- 5.3 分析天平：感量 0.1 mg 和 0.01 g。
- 5.4 浓缩装置：氮吹仪、旋转蒸发仪或者其它等效装置。
- 5.5 固相萃取装置：手动或自动，流速可调。
- 5.6 超声波清洗器。
- 5.7 超纯水系统。

## 6 样品的采集、保存和制备

### 6.1 样品的采集和保存

按 HJ/T 91 和 HJ/T 164 的相关规定进行水样的采集和保存。用采样瓶（5.2）采集样品，采样瓶要完全注满，不留气泡。用甲酸（4.3）调至 pH $\leq 2$ ，若水中有余氯存在，要在每升水中加入 50 mg 抗坏血酸（4.5）除氯。样品采集后应避光于 5℃ 以下冷藏，在 7 天内萃取。

### 6.2 试样的制备

#### 6.2.1 萃取

先依次用 5 mL 甲醇（4.2）、5 mL 水清洗平衡活化固相萃取柱（4.11）。量取 1000 mL 水样，用氢氧化钠溶液（4.8）或盐酸溶液（4.7）调节 pH 值至中性后加入 10 mL 甲醇（4.2）。水样通过活化后固相萃取柱（4.11）的流速为 10 mL/min 左右，水样富集后，用氮气（4.15）干燥固相萃取柱（4.11）。再用 15 mL 洗脱液（4.4）洗脱富集后的小柱，收集洗脱液，用无水硫酸钠（4.9）脱水，待浓缩。

#### 6.2.2 浓缩

用浓缩装置（5.5）浓缩萃取液（6.2.1），准确用流动相定容至 1.00 mL，待测。

注：萃取洗脱液如果不能及时进行测定，应在 5℃ 下避光保存，30 天内完成分析。

### 6.3 空白试样的制备

用实验用水代替实际样品，按与试样制备（6.2）相同步骤制备实验室空白试样。

## 7 分析步骤

## 7.1 仪器参考分析条件

## 7.1.1 液相色谱参考条件

其中：

- a) 色谱柱：C18, 50 mm×2.1 mm, 1.7 μm 或相当者；
- b) 样品室温度：10℃。柱温箱温度：40℃；
- c) 进样量：10 μL；
- d) 流动相 A：乙腈，流动相 B：超纯水 -0.2%甲酸。

采用线性梯度洗脱及流速条件见表1。

表1 液相色谱线性梯度洗脱条件

时间 / (min)	乙腈 / (%)	超纯水 -0.2%甲酸 / (%)	流速 / (mL/min)
0	25	75	0.40
0.50	25	75	0.40
4.50	55	45	0.40
5.00	95	5	0.40
6.00	95	5	0.40
6.50	25	75	0.40
7.00	25	75	0.40

## 7.1.2 串联质谱参考条件

采用电喷雾离子源 (ESI) 正离子模式进行检测，监测模式为多级反应监测模式 (MRM)。喷射电压 1.5 kv，源温度为 150℃，脱溶剂气温度为 450℃，流量为 800 L/h，锥孔气流速为 150 L/h，锥孔电压和碰撞能分析条件见表2。

表2 11种藻毒素的MRM分析条件

物质	锥孔电压 (v)	碰撞能 (eV)	母离子/子离子
CYN (M+H <sup>+</sup> )	30	35	415.4>176.4*
		35	415.4>194.2
MC-RR (M+2H <sup>+</sup> )	30	60	520>135.1*
		25	520>621.3
NOD (M+H <sup>+</sup> )	30	40	825>134.9*
		60	825>180.9
MC-YR (M+H <sup>+</sup> )	30	70	1045.4>135.1*
		60	1045.4>213.1
MC-HtyR (M+H <sup>+</sup> )	30	75	1059.2>135.1*
		70	1059.2>107.1
MC-LR (M+H <sup>+</sup> )	30	70	995.5>135.1*
		60	995.5>213.1

表 2 (续)

物质	锥孔电压 (v)	碰撞能 (eV)	母离子/子离子
MC-WR (M+H <sup>+</sup> )	30	60	1068.3>135.1*
		75	1068.3>159.1
MC-LA (M+H <sup>+</sup> )	30	60	910>135.1*
		70	910>107.1
MC-LY (M+H <sup>+</sup> )	30	70	1002.2>135.1*
		50	1002.2>107.1
MC-LW (M+H <sup>+</sup> )	30	70	1025.2>135.1*
		40	1025.2>213.1
MC-LF (M+H <sup>+</sup> )	30	70	986.2>135.1*
		50	986.2>163.1

注：\*为定量离子

## 7.2 校准曲线的绘制

使用流动相将 11 种藻毒素的标准使用液 (4.12) 逐级稀释得到的浓度为 0.02、0.10、0.50、1.0、5.0、10.0、50.0 μg/L 的标准工作液, 浓度由低到高进样检测, 以定量离子峰面积-浓度作图, 得到标准曲线回归方程。

## 7.3 试样测定

待测试样 (6.2.2) 与绘制标准曲线相同的条件进行测定。若试样中目标物浓度超出校准曲线范围, 需稀释后重新测定。

## 7.4 空白试验

空白试样 (6.3) 按照与试样相同的条件进行测定。

## 8 结果计算与表示

### 8.1 定性分析

按照上诉条件测定试样和标准工作溶液, 如果试样中的质量色谱峰保留时间与标准工作溶液一致 (变化范围 ±2.5% 之内); 样品中目标化合物的两个子离子的相对丰度与浓度相当标准溶液的相对丰度一致, 相对丰度偏差不超过表3 的规定, 则可定性判定该目标物。

表3 定性离子相对丰度的最大允许偏差

相对离子丰度	>50%	>20%至 50%	>10%至 20%	≤10%
允许的相对偏差	±20%	±25%	±30%	±50%

### 8.2 定量分析

样品中藻毒素的质量浓度按式(1)计算, 计算结果需扣除空白值:

$$\rho = \frac{\rho_1 \times V_1}{V} \times f \dots\dots\dots (1)$$



式中:

$\rho$  ——样品中藻毒素的质量浓度,  $\mu\text{g/L}$ ;

$\rho_1$  ——由标准曲线得到的试样中藻毒素浓度,  $\mu\text{g/L}$ ;

$V_1$  ——定容后体积,  $\text{ml}$ ;

$V$  ——水样体积,  $\text{ml}$ ;

$f$  ——稀释倍数。

### 8.3 结果表示

当测定结果大于等于  $1.00 \mu\text{g/L}$  时, 数据保留三位有效数字, 当结果小于  $1.00 \mu\text{g/L}$  时, 数据保留小数点后两位。

### 8.4 方法检出限

当取样量为  $1 \text{ L}$ , 最终定容体积为  $1 \text{ mL}$  时, 方法检出限为  $0.02 \text{ ng/L} \sim 0.05 \text{ ng/L}$ 。详见附录A。

## 9 质量保证和质量控制

### 9.1 空白试验

采集样品时每批至少采集一个全程序空白样品, 分析样品时每批样品至少做一个实验室空白, 所有空白测试结果中的目标化合物浓度应小于方法检出限。

### 9.2 平行样测定

每  $10$  个样品或每批次 (少于  $10$  个样品) 需分析一个平行双样。平行双样测定结果的相对偏差应控制在  $30\%$  以内。

### 9.3 加标回收率测定

每批样品应进行至少  $10\%$  的样品加标回收率测定, 加标回收率应在  $60\% \sim 140\%$  以内。

### 9.4 校准

标准曲线的相关系数应不小于  $0.995$ 。每测定  $20$  个样品测定一个校准曲线中间点浓度的标准溶液, 测定值与该点初始浓度的相对误差应小于等于  $20\%$ 。

## 10 废物处理

对实验过程中产生的废液及分析后的高浓度样品, 应置于密闭容器中保存, 并委托有资质的单位进行处理。

附 录 A  
(资料性附录)

11 种藻毒素的方法检出限和测定下限及名称、CAS 号和相对分子量

11 种藻毒素的方法检出限和测定下限（见表A.1）及名称、CAS 号和相对分子量（见表A.2）

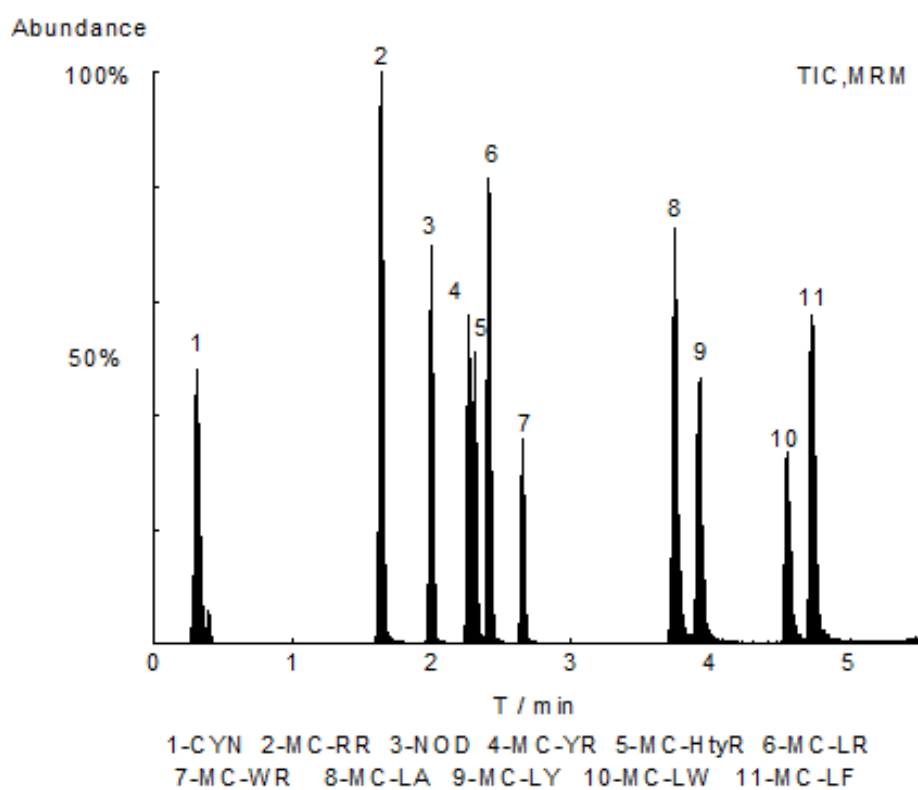
表A.1 11 种藻毒素的方法检出限和测定下限

化合物名称 (简称)	方法检出限 (ng/L)	方法测定下限 (ng/L)
CYN	0.05	0.20
MC-RR	0.02	0.08
NOD	0.02	0.08
MC-YR	0.02	0.08
MC-HtyR	0.02	0.08
MC-LR	0.02	0.08
MC-WR	0.02	0.08
MC-LA	0.02	0.08
MC-LY	0.02	0.08
MC-LW	0.02	0.08
MC-LF	0.02	0.08

表A.2 11 种藻毒素的名称、CAS 号和相对分子量

化合物名称	英文名称	英文缩写	CAS号	相对分子量
微囊藻毒素-LR	Microcystin-LR	MC-LR	101043-37-2	995.2
微囊藻毒素- RR	Microcystin-RR	MC-RR	111755-37-4	1038.2
微囊藻毒素- YR	Microcystin-YR	MC-YR	101064-48-6	1045.2
微囊藻毒素- LA	Microcystin-LA	MC-LA	96180-79-9	910.0
微囊藻毒素- LF	Microcystin-LF	MC-LF	154037-70-4	986.2
微囊藻毒素- LW	Microcystin-LW	MC-LW	157622-02-1	1025.2
微囊藻毒素- LY	Microcystin-LY	MC-LY	123304-10-9	1002.2
微囊藻毒素- WR	Microcystin-WR	MC-WR	138234-58-9	1068.3
微囊藻毒素- HtyR	Microcystin-HtyR	MC- HtyR	/	1059.2
节球藻毒素	Nodularin	NOD	118399-22-7	825.0
拟柱胞藻毒素	Cylindrospermopsin	CYN	143545-90-8	415.4

附录 B  
(资料性附录)  
11 种藻毒素的总离子流图



图B.1 11种藻毒素的总离子流图