

采用SCIEX质谱快速准确定量分析水中的9种微囊藻毒素

Simultaneous Determination of Microcystins in Water by LC-MS /MS

陈慧敏¹, 孙慧婧², 张蓓蓓², 杨总¹, 刘冰洁¹, 郭立海¹

Chen Huimin¹, Sun Huijing², Zhang Beibei², Yang Zong¹, Liu Bingjie¹, Guo Lihai¹

SCIEX, China¹

Jiangsu Environmental Monitoring, China²

Keywords: Microcystins, MRM, Water

引言

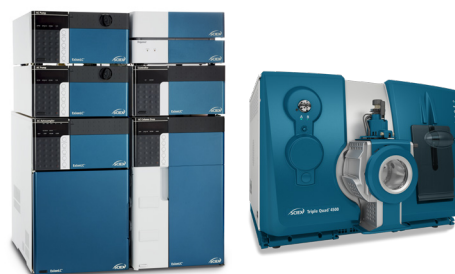
随着中国水体的富营养化程度逐渐加剧, 蓝藻水华和赤潮的发生逐渐增加, 蓝藻水华后产生一系列毒素, 其中微囊藻毒素 (Microcystins, MC) 出现频率高, 产出量大, 危害严重。MC属于环七肽肝毒素, 具有明显的肝细胞毒性, 神经毒性, 基因毒性, 胚胎毒性。世界卫生组织 (WHO) 和中国《地表水环境质量标准》(GB 3838-2002)、《生活饮用水卫生标准》(GB 5749-2006) 已经明确规定了水中MC-LR的浓度限值为1 µg/L。由于MC结构中两种可变氨基酸组成的不同, 具有多种异构体, 其中MC-HtyR、MC-LR、MC-RR、MC-YR、MC-LA、MC-LY、MC-LW、MC-LF、MC-WR (L、R、Hty、Y、F、W、A分别代表亮氨酸、精氨酸、同型酪氨酸、酪氨酸、苯丙氨酸、色氨酸、丙氨酸) 最为普遍。

本文提供水质中这9种微囊藻毒素的相应LC-MS/MS定量方法, 为水质的污染情况检测提供一个高效、准确的方案。本方案具有以下优点:

1. 本方法灵敏度高, 各化合物检出限在0.01~0.1 µg/L。
2. 具有良好的线性相关性, r均大于0.998。
3. 重现性, 回收率符合方法学要求。

仪器设备

SCIEX ExionLC™系统 + SCIEX Triple Quad™系统



色谱条件

色谱柱: C18色谱柱;

流动相: A: 水 (0.2%甲酸); B: 乙腈;

柱温: 40 °C

洗脱程序: 梯度洗脱 (表1)

表1. 梯度洗脱程序

时间 (min)	流速 (mL/min)	有机相 (%)
1	0.4	10
6	0.4	90
7.5	0.4	90
7.6	0.4	10
9	0.4	10

质谱条件

离子源: ESI源, 正离子模式

离子源参数:

喷雾电压 IS:5500 V 气帘气 CUR: 30 psi
 雾化气 GS1: 50 psi 辅助加热气 GS2: 55 psi
 碰撞气 CAD: Medium 源温度 TEM: 550 °C

9种微囊藻毒素在ESI正模式下其中MC-LA和MC-LF的 [M+H]⁺响应优于[M+H]²⁺, 因此母离子选择[M+H]⁺, MC-HtyR、MC-LR、MC-RR、MC-YR、MC-LY、MC-LW和MC-WR [M+H]²⁺响应优于[M+H]⁺。因此母离子选择[M+H]²⁺, 选择母离子后, 对母离子进行打碎, 选择响应比较高的两个子离子, 建立了MRM方法, 详细参数见表2。

表2. 离子对参数

分析物	母离子	子离子	驻留时间 (msec)	去簇电压 (V)	碰撞电压 (eV)
MC-RR 1	519.9	135	20	50	35
MC-RR 2	519.9	620.4	20	50	36
MC-YR 1	523.2	911.4	20	30	15
MC-YR 2	523.2	135	20	30	15
MC-HtyR 1	530.4	135.1	20	20	15
MC-HtyR 2	530.4	925.5	20	20	15
MC-LR 1	498.3	861.4	20	20	14
MC-LR 2	498.3	135.2	20	20	15
MC-WR 1	534.9	934.6	20	28	15
MC-WR 2	534.9	135	20	28	15
MC-LA 1	910.6	776.4	20	20	26.4
MC-LA 2	910.6	375.2	20	20	41
MC-LY 1	501.6	485.7	20	20	10
MC-LY 2	501.6	135.1	20	20	12
MC-LW 1	513.3	891.4	20	20	13
MC-LW 2	513.3	135	20	20	17
MC-LF 1	986.6	852.5	20	30	30
MC-LF 2	986.6	478.2	20	30	37

实验结果

1. 9种微囊藻毒素和内标的典型色谱图如图一, 各化合物 (1 µg/L) 的提取离子流图如图二。各化合物的检出限在0.01~0.1 µg/L。

XXIC from 20200911.wiff (sample 7) - XX4, +MRM (20 transitions): IS (556.4 / 136.1)

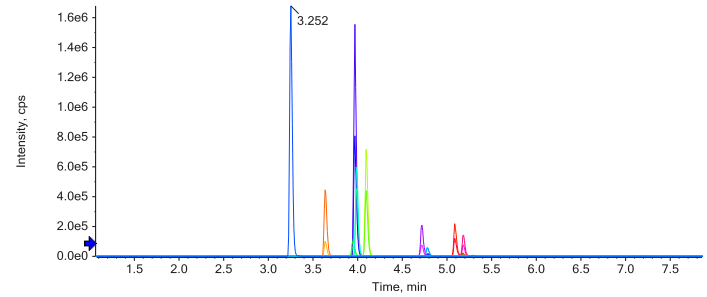


图1. 9种微囊藻毒素标准品和内标典型色谱图

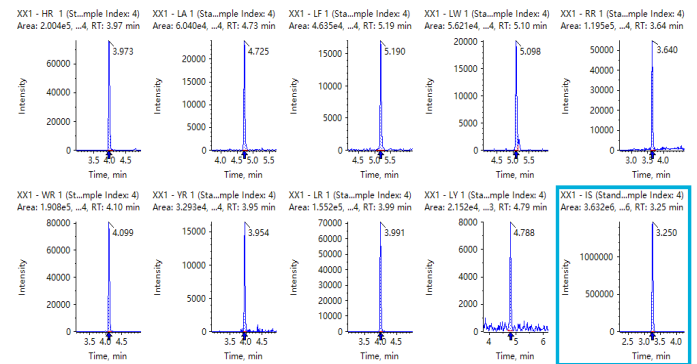


图2. 9种微囊藻毒素标准品 (1 ng/mL) 和内标亮氨酸脑啡肽的提取离子流图

2. 标准曲线

9种微囊藻毒素各自具有良好线性关系, 回归系数r均大于0.998, 完全满足检测需求。各标准曲线的回归方程和回归系数见图3。

- Calibration for HR 1: $y = 0.02311x + 0.01804$ ($r = 0.99856$, $r^2 = 0.99711$) (weighting: 1 / x)
- Calibration for LA 1: $y = 0.00676x + 0.00439$ ($r = 0.99906$, $r^2 = 0.99811$) (weighting: 1 / x)
- Calibration for LF 1: $y = 0.00443x + 0.00491$ ($r = 0.99869$, $r^2 = 0.99738$) (weighting: 1 / x)
- Calibration for LW 1: $y = 0.00664x + 0.00375$ ($r = 0.99852$, $r^2 = 0.99705$) (weighting: 1 / x)
- Calibration for RR 1: $y = 0.01269x + 0.01133$ ($r = 0.99873$, $r^2 = 0.99746$) (weighting: 1 / x)
- Calibration for WR 1: $y = 0.02199x + 0.01373$ ($r = 0.99917$, $r^2 = 0.99835$) (weighting: 1 / x)
- Calibration for YR 1: $y = 0.00383x + 0.00281$ ($r = 0.99901$, $r^2 = 0.99803$) (weighting: 1 / x)
- Calibration for LA 1: $y = 0.01722x + 0.01523$ ($r = 0.99861$, $r^2 = 0.99723$) (weighting: 1 / x)
- Calibration for LY 1: $y = 0.00203x + 0.00230$ ($r = 0.99891$, $r^2 = 0.99782$) (weighting: 1 / x)

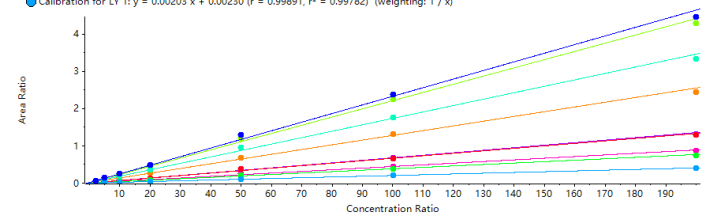


图3. 9种微囊藻毒素标准曲线

3. 重现性和回收率考察

利用实际地表水平行制备六份加标溶液（添加浓度为2 µg/L），进样分析。利用峰面积进行回收率和相对标准偏差计算，结果表明回收率在85-110%，6针平行样品的相对标准偏差均小于2%，回收率和相对标准偏差均满足测试要求。详细结果见表3。

表3. 回收率和重现性考察结果

分析物	回收率 %	相对标准偏差 (RSD %)
MC-RR	98.1	1.51
MC-YR	89.2	1.82
MC-HtyR	99.3	1.32
MC-LR	90.5	1.44
MC-WR	95.8	0.78
MC-LA	101.3	1.31
MC-LY	97.7	1.89
MC-LW	96.2	1.09
MC-LF	98.8	1.15

小结

本文采用高效液相色谱串联三重四极杆质谱建立了水中9种微囊藻毒素的LC-MS/MS快速定量方法。该方法的灵敏度高，检测限可达到0.01 µg/L ~0.1 µg/L，满足日常检测限量需求；各化合物均具有良好线性关系，且相关系数均大于0.998；方法重现性好，且加标回收率在85%~110%满足实际样本检测需求。该方法在水环境领域检测微囊藻毒素具有重要的参考意义。

SCIEX临床诊断产品线仅用于体外诊断。仅凭处方销售。这些产品并非在所有国家地区都提供销售。获取有关具体可用信息，请联系当地销售代表或查阅<https://sciex.com.cn/diagnostics>。所有其他产品仅用于研究。不用于临床诊断。本文提及的商标和/或注册商标，也包括相关的标识、标志的所有权，归属于AB Sciex Pte. Ltd. 或在美国和/或某些其他国家地区的各权利所有人。

© 2021 DH Tech. Dev. Pte. Ltd. RUO-MKT-02-13130-ZH-A



SCIEX中国

北京分公司
北京市朝阳区酒仙桥中路24号院
1号楼5层
电话：010-5808-1388
传真：010-5808-1390

上海公司及中国区应用支持中心
上海市长宁区福泉北路518号
1座502室
电话：021-2419-7200
传真：021-2419-7333

广州分公司
广州市天河区珠江西路15号
珠江城1907室
电话：020-8510-0200
传真：020-3876-0835