

## 高效液相色谱-串联质谱法检测自来水中内分泌干扰物

胡艳慈 李云飞 朱仲良\* 丛培盛

(同济大学化学系, 上海, 200092)

环境中内分泌干扰物通过各种渠道直接或间接进入人体, 对人体造成伤害. 其对环境的影响已经受到社会普遍关注, 很多国家和地区开始对内分泌干扰物进行研究并将其视为优先领域. 检测内分泌干扰物的方法有液相色谱法、气相色谱法、气质联用法及液质联用法等.

利用固相萃取、高效液相色谱-串联质谱法检测自来水中内分泌干扰物, 建立了可靠的定性方法, 并利用双酚 A 标准物质对该定性方法进行验证, 结果表明串联质谱分析可以作为鉴定有机污染物的依据.

### 1 分析方法

**实验仪器** 固相萃取仪: Glass Speed Mate-12, Applied separations Inc. (ASI); 固相萃取小柱:  $C_{18}$  (500mg/3ml), Applied separations Inc. (ASI); 液相系统: Varian ProStar (210 二元泵, 脱气机); 自动进样器: Varian 410; 质谱仪: Varian 310 LC-MS/MS 三重四极杆质谱仪 (ESI 离子源).

**实验试剂** 甲醇: HPLC 色谱纯 (高效液相色谱专用), SCRC 国药集团化学试剂有限公司; 超纯水: Millipore Express 超纯水系统制备; 双酚 A: 优级纯, 上海晶纯试剂有限公司.

**标准溶液的配制** 双酚 A 标准溶液的配制: 称取双酚 A 0.2 g, 用甲醇定容至 100 ml 容量瓶中, 作为储备液.

**样品的采集** 采集了上海市杨树浦水厂及用户的 7 个水样进行检测, 水样 1、2、3、4、5、6、7 分别代表杨树浦水厂原水、杨树浦水厂出厂水、杨浦区某用户自来水、虹口区某用户自来水、普陀区某用户自来水、卢湾区某用户自来水、宝山区某用户自来水.

**样品前处理** 向固相萃取柱加入甲醇活化 5 min, 再加入高纯水冲洗, 采集水样以一定的流速过柱, 静置 20 min 后, 高纯水作为清洗剂除去其它杂质, 加入 5 ml 甲醇, 停留 5 min, 自然流出后, 用甲醇定容至 5 ml 的容量瓶中, 再以 0.45  $\mu$ m 的微孔滤膜过滤即可.

**色谱条件** 色谱柱: Varian Inertsil 3 ODS-3 (150 mm  $\times$  2 mm, 3  $\mu$ m); 柱温: 30  $^{\circ}$ C; 等度洗脱: 0.2 ml  $\cdot$  min $^{-1}$ , 80% 甲醇-20% 水; 进样量: 10  $\mu$ l

**质谱条件** 离子源: ESI (-); 屏蔽电压: 600 V; 检测器电压: 1000 V; 干燥气压力: 18 psi; 电喷雾电压: 5000 V; 雾化气压力: 55 psi; 干燥气温度: 300  $^{\circ}$ C; 毛细管电压: 40 V; 碰撞电压: 30 eV; MRM 模式, 双酚 A  $m/z$  227.2/212.1, 雌酮  $m/z$  269.2/144.8; SM 模式, 五氯苯酚  $m/z$  263.0, 265.0, 267.0

### 2 定性方法的建立

欧盟关于分析方法评价和结果解释执行委员会 96/23/EC (2002/657/EC 指令) 中明确指出, 在残留分析中以质谱作为定性方法须达到 4 个鉴定点, 才能满足鉴定<sup>[1]</sup>. 根据欧盟协议及质谱裂解理论, 质谱图对三种目标物质进行定性分析.

经过预处理后的水样进行 ESI 负离子模式全扫描, 从获得的总离子流图中分别提取目标化合物 BPA 分子离子  $[BPA - H]^{-}$  ( $m/z = 227.2$ )、雌酮分子离子  $[E1 - H]^{-}$  ( $m/z = 269.2$ )、五氯苯酚同位素分子离子  $[PCP - H]^{-}$  的色谱图 ( $m/z = 263.0$ ,  $m/z = 265.0$ ,  $m/z = 267.0$ ).

五种离子的色谱峰均很明显,  $m/z = 227.2$  的保留时间为 4.12 min,  $m/z = 269.2$  的保留时间为 6.15 min,  $m/z = 263.0$ ,  $m/z = 265.0$ ,  $m/z = 267.0$  在同一保留时间出峰, 为 8.04 min, 且信号强度分别为  $4.58 \times 10^6$ 、 $7.80 \times 10^6$ 、 $5.16 \times 10^6$ , 比值为 8.9 15.1 10.0, 与根据  $^{35}Cl$  与  $^{37}Cl$  丰度比所计算出的理论比值 9 15 10 很接近. 可以确定, 8.04 min 时的物质为五氯苯酚.

为进一步定性, 将五种离子进行二级质谱扫描. 结果显示  $m/z = 227.2$  的离子经过碰撞裂解后的主要碎片有 93.2, 133.2, 159.4, 212.1, 根据有机质谱理论,  $[BPA - H]^{-}$  最容易丢失  $-CH_3$  形成  $[BPA - CH_3 - H]^{-}$ , 而  $[BPA - CH_3 - H]^{-}$  的质荷比为 212.1, 与质谱图中一致. 另外, 碎片  $m/z = 133.2$  与  $[BPA - H]^{-}$  裂解失去  $-C_6H_6O$  形成  $[BPA - C_6H_6O - H]^{-}$  相一致. 因此, 可以确定保留时间为 4.12 min 时的物质为双酚 A.

$m/z = 269.2$  的离子经过裂解后可形成  $m/z = 144.8$  和  $m/z = 254.2$  的碎片,  $m/z = 144.8$  是  $[E1 - H]^{-}$  裂解丢失  $-C_8H_{12}O$  后形成的, 即  $[M - C_8H_{12}O - H]^{-}$ ; 而  $m/z = 254.2$  是  $[E1 - H]^{-}$  裂解丢失  $-CH_3$  形成的  $[E1 - CH_3 - H]^{-}$ . 所以保留时间 6.15 min 时的物质为雌酮.

2009 年 12 月 9 日收稿.

\*通讯联系人, E-mail: zhuzl@tongji.edu.cn

质荷比  $m/z = 263.0$ 、 $265.0$ 、 $267.0$ 的三种离子均未发现显著的碎片离子,但是三者的保留时间相同且绝对信号的比例关系符合按照氮同位素计算的比例。可以判断,保留时间  $8.04 \text{ min}$ 物质为五氯苯酚。

由该定性方法判断出自来水中同时含有双酚 A、五氯苯酚、雌酮这三种物质。

### 3 水样中三种物质的相对含量

利用建立好的方法对杨树浦水厂原水、出厂水及其所供水的五个用户区的自来水进行了测定,利用色谱峰面积来表示自来水中各物质的相对含量,结果见表 1。

表 1 实际水样中三种物质的相对含量 (以峰面积表示)

水样	水样 1	水样 2	水样 3	水样 4	水样 5	水样 6	水样 7
双酚 A ( $\times 10^3$ )	50.12	ND	ND	ND	12.48	16.86	27.06
雌酮 ( $\times 10^3$ )	39.39	ND	ND	5.490	9.586	11.67	10.87
五氯苯酚 ( $\times 10^3$ )	98.65	ND	54.87	6.470	13.49	13.08	19.76

注: ND 为在该方法下未检出 (以下同)。

由表 1 可以看出,杨树浦水厂原水(水样 1)三种物质的信号都很强,出厂水(水样 2)在该条件下没有检测到这三种物质,说明该水厂的净水系统能有效地去除这三种物质,而其余五个采样点都有不同强度的信号。

### 4 定性方法的验证及水样中双酚 A 含量的测定

按照上述分析方法对双酚 A 标准物质进行分析,全扫描的色谱峰保留时间为  $4.12 \text{ min}$ 、以及准分子离子  $227.2$  经过进一步碰撞打碎的碎片离子为  $93.1$ 、 $133.2$ 、 $212.1$ ,均与上文中一致。从这些方面得出上述方法可以作为鉴定自来水中污染物种类的可靠依据。

用标准储备双酚 A 溶液配制不同浓度的标准溶液进行分析,以峰面积  $Y$  为纵坐标,浓度  $X$  为横坐标作图,绘制标准曲线,线性回归方程为  $Y = 9.245 \times 10^4 X + 3.478 \times 10^2$ ,相关系数为  $0.9992$ ,线性良好。

在本次所采水样检测结果见表 2。由表 2 可见,杨树浦水厂原水(水样 1)和宝山区用户水(水样 7)中双酚 A 的含量超过了国家标准 ( $0.01 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ),普陀区(水样 5)、卢湾区(水样 6)的用户水中双酚 A 的含量低于国家标准,出厂水(水样 2)、杨浦区(水样 3)和虹口区用户(水样 4)的水样没有检测到双酚 A。另外从表中还可以看出杨树浦水厂水处理工艺有效地去除了双酚 A,而用户水中双酚 A 含量增多的一个可能原因是输水管道对自来水造成二次污染;宝山区距离水厂较远,并且在五个区用户水中双酚 A 的含量最高,说明随着管道长度的增加,污染程度增大。

表 2 实际水样中双酚 A 检测结果

水样	水样 1	水样 2	水样 3	水样 4	水样 5	水样 6	水样 7
双酚 A / $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	0.026	ND	ND	ND	0.0066	0.0089	0.012

综上所述,利用高效液相色谱-串联质谱法鉴定出自来水中含有雌酮、双酚 A、五氯苯酚三种内分泌干扰物,并且在所采水样中,杨树浦水厂的原水中三种物质信号最高,其出厂水中未检出目标产物,说明该水厂的净水系统能有效去除这几种内分泌干扰物;在五个供水点用户区的自来水中也检测到不同强度的目标物质,而且随着输送距离的增加,含量增大,说明输水管道可能存在污染。

### 参 考 文 献

- [1] 郑亚辉,串联质谱技术在食品安全分析中的应用 [J]. 现代科学仪器, 2006, 1: 33—34