

分析与监测

高效液相色谱法检测饮用水中吐纳麝香

邵煜¹, 孙哲¹, 余永强¹, 王丽丽², 李建¹, 陈蓉¹, 张土乔¹,
刘小为¹

(1. 浙江大学建筑工程学院 市政工程研究所, 浙江 杭州 310058; 2. 浙江农林大学暨阳
学院 生物环境系, 浙江 诸暨 311800)

摘要: 多环麝香类物质吐纳麝香(AHTN)是近年来在饮用水及饮用水源中检出频率较高的一种新型污染物。目前普遍采用气相色谱质谱联用(GC-MS)方法检测水中AHTN。针对GC-MS方法存在的一些不足,开发了一种简单、快速的高效液相色谱(HPLC)测定方法。新的HPLC测定方法能在5 min内完成样品的检测,辅以固相萃取样品富集技术,检测限可达ng/L水平。新方法将水样与乙腈以一定比例混合,明显改善了AHTN在液相色谱柱中的分离效果并消除了滤膜对样品回收率的影响。对GC-MS法和HPLC法进行对比试验发现,两种方法测定同一样品(纯水和实际水体本底)时相对误差 $\leq 2.0\%$,二者之间的相对偏差 $< 1.0\%$ 。因此,HPLC法可作为检测水中AHTN的备选方法。该方法对水相中溶解度较小、极性较弱的其他有机物的检测具有借鉴意义。

关键词: 饮用水; 吐纳麝香; 高效液相色谱法; 参数优化

中图分类号: TU991 **文献标识码:** C **文章编号:** 1000-4602(2018)02-0112-06

Detection of Tonalide in Drinking Water Using High Performance Liquid Chromatography

SHAO Yu¹, SUN Zhe¹, YU Yong-qiang¹, WANG Li-li², LI Jian¹, CHEN Rong¹,
ZHANG Tu-qiao¹, LIU Xiao-wei¹

(1. Institute of Municipal Engineering, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China; 2.
Department of Biological and Environmental Engineering, Jiyang College of Zhejiang
A & F University, Zhuji 311800, China)

Abstract: Polycyclic musk tonalide (AHTN) is an emerging organic pollutant which has been frequently detected in drinking water and source water in recent years. The gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) is usually used as the detection method for AHTN. While, there are some problems for GC-MS. So a simple and rapid high performance liquid chromatography (HPLC) method was developed to overcome the deficiency of GC-MS. The sample analysis could be completed with HPLC method within 5 min. Assisted with enrichment techniques such as solid phase extraction, the detection limit can

reach to ng/L level. In the new detection process, aqueous AHTN sample is mixed with acetonitrile in a certain ratio, which improves the separation efficiently of AHTN in liquid chromatography column and eliminate the influence of membrane filtration on the recovery of samples. By comparison, when samples prepared with pure water and actual water were determined, it was found that the relative errors for the two methods were less than 2.0% and the relative deviation of the two methods was less than 1.0%. Thus, the developed HPLC method can be used as an alternative method for detecting AHTN in water. This method provides reference to the determination of other organic compounds with low water solubility and weak polarity.

Key words: drinking water; tonalide; HPLC; parameter optimization

吐纳麝香(AHTN)作为一种多环麝香被广泛用于化妆品与日用品中,具有较强的亲脂憎水性(正辛醇-水分配系数 $\log K_{ow} = 5.7$)^[1],在环境中降解性较差,进入到环境中易生物富集,在一定暴露剂量下会产生雌激素效应^[2],是一种新型的环境污染物。国内外的研究者在土壤^[3]、水体^[4]、大气^[5]、水中生物体^[6]、人类血液^[7]中均检测到了 AHTN。近年来,AHTN 在饮用水水源和自来水中的检出(ng/L 水平)引起了人们对其在水环境中的迁移转化以及生态毒性这一问题的关注^[8~10]。

目前,水相中 AHTN 的检测一般采用气相色谱质谱联用(GC-MS)法^[11~13],常用的有 GC-SIM-MS^[14]和 GC-HRMS(高分辨质谱)^[15]等。此类方法具有检测灵敏、准确度高、检出限低等特点,辅以富集手段其检测限可达 ng/L 水平^[16,17]。但考虑到在 GC-MS 测定时通常需要将 AHTN 转移到有机相中(除非增设顶空和吹扫捕集进样模块),耗时长,且仪器成本较高。此外,已有研究表明超高效液相色谱-大气压电离-串联质谱法(UPLC-APPI-MS/MS)也能快速准确地检测 AHTN^[18],但该方法仪器成本也偏高。由于 AHTN 本身具有芳香结构,在紫外区域有较强的吸收,用高效液相色谱(HPLC)-紫外检测器检测具有可行性。而且,HPLC 仪器成本相对低且样品前处理相对简单(水样简单过滤后可直接进样)。鉴于此,笔者开发了一种基于 HPLC 的检测方法检测 AHTN。

1 试验部分

1.1 主要试剂和仪器

试剂:乙腈(色谱纯,Merck),AHTN 标准品(百灵威科技有限公司),增强尼龙滤膜(0.45 μm , \varnothing 25 mm),超纯水(18.2 M $\Omega \cdot \text{cm}$),正己烷(色谱纯,天津四友精细化学品有限公司),无水硫酸钠(分析

纯,国药集团化学试剂有限公司),甲醇(色谱纯,Merck)。

仪器:高效液相色谱(Agilent1200 Series, G1314B VWD 紫外检测器,G1315D-1260DADVL 二极管阵列检测器),安捷伦 Eclipse XDB-C18 液相色谱柱(5 μm ,4.6 mm \times 150 mm),气相色谱质谱联用仪(Shimadzu GCMS-QP2010),SMART-N 型超纯水仪,旋涡振荡器,磁力搅拌器,SBEQ-CR1012 型 12 管 SPE 固相萃取装置,MTN-2800D 氮吹浓缩仪,Waters Oasis HLB(3 mL/60 mg)固相萃取小柱,1 mL 微量注射器。

1.2 试验方法

在确定 AHTN 液相色谱检测方法的参数时,采用有机溶剂(乙腈)溶解 AHTN 配制母液和标准溶液。在优化 AHTN 水样前处理条件参数时,采用超纯水来溶解 AHTN。在进行回收率试验和方法比对试验时采用脱氯自来水(水龙头自来水放置过夜)配制 AHTN 溶液,所用自来水的水质参数如表 1 所示。

表 1 自来水常规指标参数

Tab. 1 Routine index parameters of tap water

项 目	自来水 1#	自来水 2#
pH 值	7.15	7.28
UV ₂₅₄ /cm ⁻¹	0.015	0.022
TOC/(mg·L ⁻¹)	1.934	2.012
Cl ⁻ /(mg·L ⁻¹)	15.708	15.584
NO ₃ ⁻ /(mg·L ⁻¹)	9.392	6.324
SO ₄ ²⁻ /(mg·L ⁻¹)	18.331	20.832
Mn ²⁺ /(mg·L ⁻¹)	0.012	0.018
Cu ²⁺ /(mg·L ⁻¹)	0.076	0.024
Zn ²⁺ /(mg·L ⁻¹)	1.225	0.024
Fe ³⁺ /(mg·L ⁻¹)	0.155	0.131
电导率/($\mu\text{S} \cdot \text{cm}^{-1}$)	188.9	215.0

AHTN 在水中溶解度为 1.25 mg/L, 为了计算简便及配制药剂, 选用 1 mg/L 作为 AHTN 储备溶液的浓度。储备溶液置于 4 ℃ 冰箱中避光保存, 每次使用之前, 用磁力搅拌器搅拌 30 min。工作溶液根据需要由储备溶液按照一定比例稀释获得。样品的制备流程见图 1。

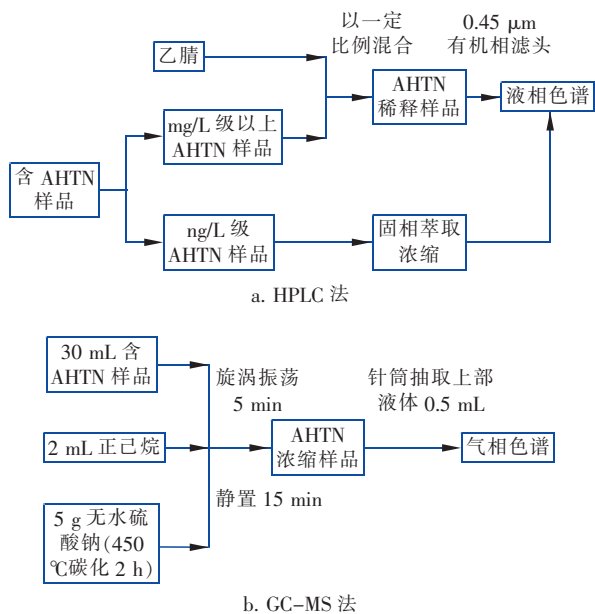


图 1 样品制备流程

Fig. 1 Sample preparation process

固相萃取试验参数:

① 固相萃取小柱的活化。依次取 10 mL 甲醇和纯水通过 Oasis HLB 固相萃取小柱, 此过程避免固相萃取小柱填料接触空气。

② 样品的富集。打开固相萃取装置, 调节真空度, 保持水样以 1~2 mL/min 流速通过固相萃取小柱。

③ 洗脱。取 10 mL 乙腈, 调节真空度使其以一定流速洗脱待测物。

④ 浓缩和定容。将洗脱液氮吹吹干, 用微量注射器取 1 mL 乙腈溶液定容, 待测。

GC-MS 测定仪器参数: 色谱柱为 Rtx-5 MS (30 m × 0.25 mm × 0.25 μm, 岛津); 进样方式为不分流进样; 进样量为 2 μL; 毛细管进样口温度为 260 ℃; 离子源 (EI 源) 温度为 280 ℃; 升温程序为 80 ℃ 保持 1.5 min, 以 10 ℃/min 升至 160 ℃, 再以 3 ℃/min 升至 210 ℃, 最后以 15 ℃/min 升至 240 ℃ 保持 1 min; 电子攻击能量为 70 eV; 载气为高纯氮气, 流速为 0.8 mL/min; 扫描模式为 SIM 模式, 保留时间

为 19.903 min, 定量特征离子 $m/z = 159, 187, 243, 258$ 。

2 结果与讨论

2.1 HPLC 检测参数的确定

通过二极管阵列检测器 (DAD) 对 AHTN 的乙腈溶液进行扫描发现, AHTN (1 mg/L) 在 210 nm 和 253 nm 处有较大吸收峰。考虑到常用的流动相甲醇和乙腈在 210 nm 处有一定的紫外吸收, 故选用 253 nm 作为检测波长。

由于 AHTN 为中性非极性物质, 针对这一特性该方法中采用了 EclipseXDB-C18 液相色谱柱 (5 μm, 4.6 mm × 150 mm), 其 pH 值适用范围在 3~8。柱温是影响 HPLC 测定方法稳定性的一个重要参数。为了方法的稳定性, 通常将柱温控制在高于室温 10 ℃, 本实验中柱温控制在 35 ℃。

流动相常用的有机溶剂有甲醇和乙腈, 相较甲醇而言, 乙腈作为流动相具有洗脱能力更强、背景值更低、柱压小等优点, 故选择乙腈作为流动相有机溶剂。通过预实验发现, 在常用的 1 mL/min 流动相流速下, 采用乙腈-水 (90:10) 的流动相能够有效避开前 2 min 可能出现的溶剂峰, 获得较适宜的出峰时间 (4~5 min)。基于以上参数设置, 可以发现在进样体积为 10~40 μL 的情况下, 均获得了较好的峰形 (见图 2)。根据对称因子计算公式 $T = W_{0.05h} / 2d_1$ ($W_{0.05h}$ 为 5% 峰高处的峰宽, d_1 为峰顶点至峰前沿之间的距离), 进样量为 10、20、40 μL 时对应的 T 分别为 1.22、1.21、1.18。故可根据实际需要选择 10~40 μL 的进样量。

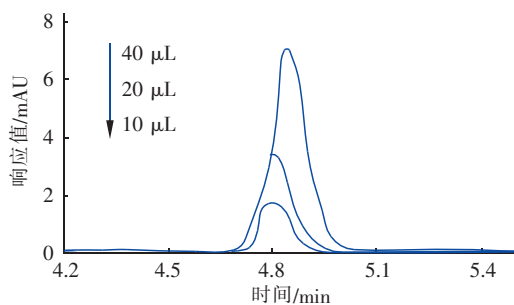


图 2 不同进样体积的 AHTN 样品 (乙腈为溶剂) 出峰情况
Fig. 2 HPLC spectra of AHTN sample (acetonitrile as solvent) at different injection volume

2.2 样品制备及相关参数的确定

2.2.1 有机溶剂的选择

目前 HPLC 分析多为反相色谱, 流动相多为甲

醇、乙腈、水。样品一般用与流动相相溶的溶剂进行溶解,但是很多情况是不一致的。例如大部分情况下液相色谱检测时,采用极性较大的甲醇和乙腈,而样品中常以水为主。在这种情况下,由于样品的溶剂与流动相极性相差较大,流动相来不及将其稀释达到平衡,此时会出现峰分叉或峰形较宽以及拖尾的现象。在用 HPLC 检测水中 AHTN (1 mg/L) 时,出现了如图 3 所示的现象。经过二极管阵列检测器扫描后发现分叉的两峰为同一种物质(见图 4),而非其他杂质。针对这种现象,通常的处理方法是减小进样量(或将样品进行稀释)。但是,本研究发现,减小进样量后仍然不能改变样品出峰分叉的问题。

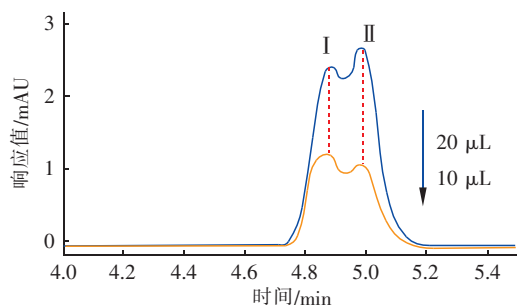


图 3 不同进样量时 AHTN 水溶液的峰形

Fig. 3 HPLC spectra of AHTN aqueous solution at different injection volume

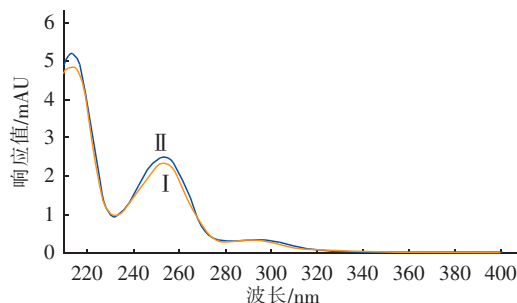


图 4 分叉峰的 UV-Vis 扫描波谱

Fig. 4 UV-Vis spectra of peak (I) and peak (II) using DAD scanning

考虑到双峰形成的可能原因为流动相和样品溶剂极性之间的差异所导致,采用有机溶剂对样品稀释可能有助于该问题的解决。由于流动相采用的有机溶剂是乙腈,所以乙腈也用来改善样品的极性。本研究考察了乙腈以不同比例稀释 AHTN (1 mg/L) 水样时的出峰情况(见图 5)。由对称因子公式可得, $T_{1:1} = 1.28$, $T_{5:3} = 1.9$, $T_{2:1} = 1.34$, $T_{5:1} = 1.44$ 。当样品与乙腈比例在 1 : 1 时,检测结果的对

称因子最小,峰形最佳,故本试验采用 1 : 1 的比例。

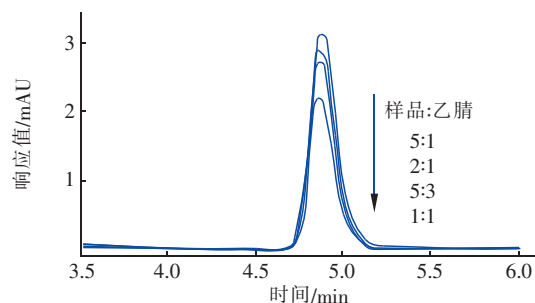


图 5 不同比例乙腈稀释 AHTN 样品的出峰情况

Fig. 5 Effect of volume ratios of acetonitrile and sample on HPLC peaks of AHTN

2.2.2 滤膜过滤的影响

由于实际水样中可能存在颗粒物,故在上机测定之前,通常要求对样品进行过滤处理以防堵塞 HPLC 测试系统。预实验结果表明,滤膜本身会对水样(无乙腈加入)中 AHTN 存在一定的吸附截留。考虑到样品为水和有机相(乙腈)混合体系,试验考察了有机相滤膜对样品回收率的影响。有机相滤膜较常使用的为增强尼龙和聚四氟乙烯两种材料,增强尼龙滤膜相较于聚四氟乙烯滤膜具有耐热、耐化学药品、价格低廉等特点,所以本实验中过滤样品的滤膜采用增强尼龙滤膜。图 6 为不同体积的相同浓度(0.5 mg/L)的 AHTN 样品(溶剂为 1 : 1 的水/乙腈)经过增强尼龙滤膜过滤后的回收率。可以发现,即使小体积样品过滤,其回收率也几乎稳定在 100% 左右。由此可知,在 AHTN 样品中加入有机溶剂乙腈不但可以解决出峰分叉的问题,还能消除过滤等预处理措施对样品回收率的影响。

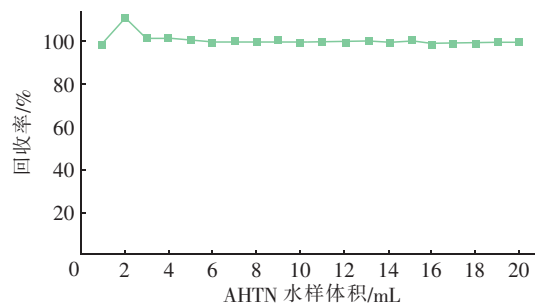


图 6 尼龙膜过滤不同体积 AHTN 水样的回收率

Fig. 6 Recovery rate of AHTN water samples pretreated with membrane filtration

2.3 方法评估

2.3.1 检出限

在上述试验条件下得到标准曲线,AHTN 在 0 ~

1 mg/L 内与峰面积呈线性关系,回归方程为 $Y = 24.7454X + 0.18268$, $R^2 = 0.9997$ 。考虑到实际饮用水中检测到 ng/L 级别的 AHTN,故本试验采用固相萃取法进行富集 500 倍后,再在上述优化的试验条件进行 HPLC 测定,得到标准曲线,AHTN 在 20 ~ 500 ng/L 内与峰面积呈线性关系,回归方程为 $Y = 0.01194X + 0.18884$, $R^2 = 0.996$ 。根据国际纯粹和应用化学联合会(IUPAC)对检出限(Detection Limit, DL)的规定: $DL = k \cdot S_b / S$ (k 为根据一定置信水平确定的系数,通常取 $k = 3$; S_b 为空白多次测定结果的标准偏差; S 为方法的灵敏度,在这里即指标准曲线的斜率)。该试验方法测定空白峰面积标准偏差为 4.3% ($n = 3$),则计算可得检出限 $DL = 10.7$

ng/L。

2.3.2 回收率试验

分别以纯水、自来水 1#和自来水 2#水样为本底进行加标回收试验。在 AHTN 加标质量浓度分别为 200.0、500.0、1 000.0 $\mu\text{g/L}$ 时,平行测定 6 次,加标回收试验结果如表 2 所示。由表 2 中的数据可知,纯水的相对标准偏差(RSD)为 0.6% ~ 2.4%,加标回收率为 95.3% ~ 102.0%;自来水 1#本底的水样测定 RSD 为 0.5% ~ 1.8%,加标回收率为 104.5% ~ 106.0%;自来水 2#本底的水样测定 RSD 为 2.2% ~ 4.9%,加标回收率为 99.5% ~ 106.0%。由此可见高效液相色谱法测定 AHTN 具有较高的准确度。

表 2 纯水、自来水加标回收试验结果

Tab. 2 Recovery experiment results of pure water and tap water

样品测定浓度/ ($\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)	加入 AHTN 量/ ($\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)	纯水			自来水 1#			自来水 2#		
		测得 AHTN 量/ ($\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)	RSD/ %	回收率/ %	测得 AHTN 量/ ($\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)	RSD/ %	回收率/ %	测得 AHTN 量/ ($\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)	RSD/ %	回收率/ %
0.0	200.0	190.5	1.2	95.3	209.0	1.8	104.5	200.0	4.9	100.0
0.0	500.0	491.0	2.4	98.2	525.0	0.5	105.0	530.0	3.4	106.0
0.0	1 000.0	1 020.2	0.6	102.0	1 060.0	1.1	106.0	995.0	2.2	99.5

2.3.3 方法比对试验

因为目前检测 AHTN 的主要方法是 GC - MS 法,故将本检测方法与其进行对比试验,选取自来水 1#作为本底进行加标试验。GC - MS 法测定 AHTN 的标准曲线拟合方程为 $y = 2494.313x - 12909.1$ ($R^2 = 0.997$),两种方法的对比结果见表 3。可见,两种方法的相对误差 $\leq 2.0\%$,二者之间的相对偏差 $< 1.0\%$ 。表明 HPLC 法同样具有较高的准确度和可靠性。

表 3 方法比对试验结果

Tab. 3 Comparison of two methods

标准样品浓度/ ($\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)	检测方法	实测浓度/ ($\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)	相对误差/ %	相对偏差/ %
50.0	液相色谱法	49.0	2.0	0.5
	气相色谱法	49.5	1.0	
100.0	液相色谱法	98.8	1.2	0.2
	气相色谱法	99.2	0.8	
160.0	液相色谱法	157.4	1.6	0.7
	气相色谱法	158.5	0.9	

注: 相对偏差 = [(单次测定值 - 平均值)/平均值] \times 100%, 相对偏差小于 5%, 在误差范围内。

3 结论

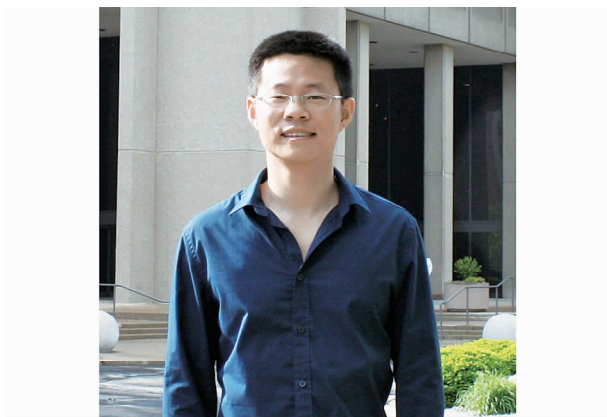
新开发的高效液相色谱(HPLC)法能够快速、

准确地检测水中 AHTN,检测限为 10.7 ng/L。该方法对纯水、自来水 1#、自来水 2#本底的水样的测定相对标准偏差为 0.5% ~ 4.9%,加标回收率为 95.3% ~ 106.0%。HPLC 法与 GC - MS 法比较,对同一样品的检测结果相对误差 $\leq 2.0\%$,且二者之间的相对偏差 $< 1.0\%$ 。HPLC 法对水中的 AHTN 的检出限为 ng/L 水平,可以更经济、简便地测得饮用水中的痕量吐纳麝香。

参考文献:

- [1] Gooding M P, Newton T J, Bartsch M R, et al. Toxicity of synthetic musks to early life stages of the freshwater mussel *Lampsilis cardium* [J]. Arch Environ Contam Toxicol, 2006, 51(4): 549 - 558.
- [2] Bitsch N, Dudas C, Korner W, et al. Estrogenic activity of musk fragrances detected by the E-screen assay using human MCF-7 cells [J]. Arch Environ Contam Toxicol, 2002, 43(3): 257 - 264.
- [3] Wang M, Peng C, Chen W P, et al. Ecological risks of polycyclic musk in soils irrigated with reclaimed municipal wastewater [J]. Ecotoxicol Environ Saf, 2013, 97: 242 - 247.
- [4] Mu L, Wen J P. Spatial distribution characteristics of

- polycyclic musks as a chemical marker in river water and sediment compared with other typical pollutants [J]. *Water Sci Technol*, 2013, 67(6): 1173 – 1180.
- [5] Mcdonough C A, Helm P A, Muir D, *et al.* Polycyclic musks in the air and water of the lower great lakes: Spatial distribution and volatilization from surface waters [J]. *Environ Sci Technol*, 2016, 50(21): 11575 – 11583.
- [6] 曾祥英, 桂红艳, 陈多宏, 等. 环境中合成麝香污染现状研究[J]. *环境监测管理与技术*, 2007, 19(2): 10 – 14.
- [7] 周静. 上海地区合成麝香和有机氯农药的母婴暴露及人体传递特征研究[D]. 上海: 上海大学, 2013.
- [8] Eschke H D. Synthetic musks in different water matrices [J]. *Handb Environ Chem*, 2004, 3: 17 – 28.
- [9] Stackelberg P E, Gibs J, Furlong E T, *et al.* Efficiency of conventional drinking-water-treatment processes in removal of pharmaceuticals and other organic compounds [J]. *Sci Total Environ*, 2007, 377(2): 255 – 272.
- [10] 周启星, 王美娥, 范飞, 等. 人工合成麝香的环境污染、生态行为与毒理效应研究进展[J]. *环境科学学报*, 2008, 28(1): 1 – 11.
- [11] Kallenborn R, Gatermann R, Planting S, *et al.* Gas chromatographic determination of synthetic musk compounds in Norwegian air samples [J]. *J Chromatogr A*, 1999, 846(1): 295 – 306.
- [12] Ramírez N, Marcé R M, Borrull F. Development of a stir bar sorptive extraction and thermal desorption-gas chromatography-mass spectrometry method for determining synthetic musks in water samples [J]. *J Chromatogr A*, 2011, 1218(1): 156 – 161.
- [13] Rimkus G G. Polycyclic musk fragrances in the aquatic environment [J]. *Toxicol Lett*, 1999, 111(1/2): 37 – 56.
- [14] Artola-Garicano E, Borkent I, Hermens J L M, *et al.* Removal of two polycyclic musks in sewage treatment plants: freely dissolved and total concentrations [J]. *Environ Sci Technol*, 2003, 37(14): 3111 – 3116.
- [15] Simonich S L, Begley W M, Debaere G, *et al.* Trace analysis of fragrance materials in wastewater and treated wastewater [J]. *Environ Sci Technol*, 2000, 34(6): 959 – 965.
- [16] Reiner J L, Kannan K. Polycyclic musks in water, sediment, and fishes from the upper Hudson River, New York, USA [J]. *Water, Air Soil Pollut*, 2011, 214(1/4): 335 – 342.
- [17] Bester K. Polycyclic musks in the Ruhr catchment area—transport, discharges of waste water, and transformations of HHCB, AHTN and HHCB-lactone [J]. *J Environ Monit*, 2005, 7(1): 43 – 51.
- [18] Chun Shih, Lung C, Liu Chunhu. High-sensitivity analysis of six synthetic musks by ultra-performance liquid chromatography-atmospheric pressure photoionization-tandem mass spectrometry [J]. *Anal Chem*, 2011, 83(12): 4955 – 4961.



作者简介:邵煜(1979 –), 男, 浙江新昌人, 工学博士, 副教授, 从事于市政工程等方面的科研教学工作, 主要研究方向为管网水质监测与控制、给排水管网规划与设计理论与方法、供水管网水质优化算法、供水管网漏损模拟与检测等。

E-mail: shaoyu1979@zju.edu.cn

收稿日期: 2017-04-06

依法治水, 科学管水, 强化节水