

高效液相色谱串联质谱法测定聚丙烯酰胺残留单体

张昊, 陈东洋, 冯家力, 曾栋, 李帮锐, 刘先军

湖南省疾病预防控制中心, 湖南 长沙 410005

摘要: **目的** 建立聚丙烯酰胺水处理剂及饮用水中丙烯酰胺的高效液相色谱-串联质谱测定方法。 **方法** 聚丙烯酰胺处理剂直接用甲醇超声提取, 水样通过活性炭固相萃取柱富集, 甲醇洗脱, 采用 T3 色谱柱分离, 以甲醇-0.1% 甲酸水溶液作为流动相, 以多反应监测 (multiple reaction monitoring, MRM), ESI⁺ 电离方式, 外标法定量。 **结果** 丙烯酰胺在 1.0~100.0 $\mu\text{g/L}$ 和 0.50~10.0 mg/L 质量浓度范围内线性良好, 相关系数分别为 0.999 3 和 0.999 8, 方法回收率为 95.0%~102%, $\text{RSD} \leq 4.7\%$, 方法检出限分别为 2 $\mu\text{g/kg}$ 和 0.000 2 $\mu\text{g/L}$ 。 **结论** 该方法快速、准确、灵敏, 适合聚丙烯酰胺水处理剂和饮用水中丙烯酰胺的测定。

关键词: 聚丙烯酰胺; 单体; 固相萃取; 高效液相色谱-串联质谱法

中图分类号: R123.5 **文献标识码:** B **文章编号:** 1006-3110(2019)03-0375-03 **DOI:** 10.3969/j.issn.1006-3110.2019.03.035

Determination of residual monomer from polyacrylamide by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry

ZHANG Hao, CHEN Dong-yang, FENG Jia-li, ZENG Dong, LI Bang-rui, LIU Xian-jun

Hunan Provincial Center for Disease Control and Prevention, Changsha, Hunan 410005, China

Corresponding author: FENG Jia-li, E-mail: goodlucklkh@163.com

Abstract: **Objective** To develop an analytical method based on high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (HPLC-MS/MS) for the determination of residual acrylamide in polyacrylamide water treatment agent and drinking water.

Methods Polyacrylamide samples were extracted by ultrasonic with methanol, while water samples were concentrated through an active carbon cartridge. The chromatographic separation was performed on T3 column using a mobile phase consisting of methanol and 0.1% formic acid aqueous solution. The MS/MS detection was performed under the multiple reaction monitoring (MRM) mode via positive electrospray ionization (ESI⁺). **Results** The calibration curve of acrylamide showed a good linearity in the ranges of 1.0~100.0 $\mu\text{g/L}$ ($r=0.999, 3$) and 0.50~10.0 mg/L ($r=0.999, 8$). The recoveries of acrylamide were in the range of 95.0%~102%. The relative standard deviation (RSD) was $\leq 4.7\%$, and the limits of detection were 2 $\mu\text{g/kg}$ and 0.000, 2 $\mu\text{g/L}$ respectively. **Conclusions** The proposed method is fast, accurate, sensitive, and suitable for the quantification of residual acrylamide monomer in polyacrylamide water treatment agent and drinking water.

Key word: polyacrylamide; monomer; solid-phase extraction; high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry

高分子聚合物聚丙烯酰胺^[1]具有良好的絮凝性, 广泛应用于工业用水和饮用水的净化处理。聚丙烯酰胺及其水解体没有毒性, 但其残留的微量未聚合的丙烯酰胺单体对人体具有神经毒性和生殖发育毒性, 已被国际癌症研究机构 (International Agency for Research on Cancer, IARC) 列为 2A 类致癌物。我国规定聚丙烯酰胺用于饮用水处理丙烯酰胺单体含量 $\leq 0.025\%$, 用于工业及废水、污水处理丙烯酰胺单体含量 $\leq 0.05\%$ 。同时我国对水体中的丙烯酰胺残留量也有严格要求,

饮用水卫生标准 (GB 5749-2006) 规定饮用水中的丙烯酰胺限量为 0.5 $\mu\text{g/L}$ 。因此, 准确测得聚丙烯酰胺水处理剂和饮用水中丙烯酰胺残留量对保证聚丙烯酰胺在水处理时的准确投放及保护人民身体健康具有十分重要的意义。

目前丙烯酰胺的测定方法有气相色谱法^[2], 气相色谱质谱法^[3-4], 液相色谱法^[5]及液相色谱串联质谱法^[6-7]。前两种方法需要对丙烯酰胺进行柱前衍生, 操作繁琐, 而且衍生不完全容易造成丙烯酰胺的损失。液相色谱法灵敏度较低, 难以广泛应用。液相色谱-串联质谱法 (liquid chromatography-tandem mass spectrometry, LC-MS/MS) 具有高分辨、低噪音, 能提供组分分子量及结构信息等优点, 在定性与定量方面都显

基金项目: 2013 年卫生标准制修订计划项目 (20130106)

作者简介: 张昊 (1980-), 女, 湖南长沙人, 硕士研究生, 主管技师, 研究方向: 理化检验技术研究。

通信作者: 冯家力, E-mail: goodlucklkh@163.com。

示出无比的优越性,常用于丙烯酰胺的测定。有文献针对水体的丙烯酰胺采用直接进样方式,液相色谱串联质谱法^[8]或离子排斥色谱质谱法^[9]测定,方法简单快捷,但用于饮用水中丙烯酰胺的测定存在灵敏度难以满足国家卫生标准的风险。本文建立聚丙烯酰胺水处理剂和饮用水中丙烯酰胺的测定方法,同时筛选出合适的固相萃取柱对饮用水中丙烯酰胺进行快速富集,方法简便、快速、灵敏,适合聚丙烯酰胺水处理剂和饮用水中丙烯酰胺的测定。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂 Waters ACQUITY Ultra performance 液相色谱系统配 XEVO TQ-S 三重四极杆质谱仪(Waters 公司,美国);HLB 固相萃取柱(500 mg, 6 ml)、C18 固相萃取柱(500 mg, 6 ml)购自 Waters 公司;碱性氧化铝柱(500 mg, 6 ml)、CARB/NH₂ 柱(500 mg, 6 ml)购自 Dikma 公司;活性炭固相萃取小柱(500 mg, 6 ml, 自制)。丙烯酰胺(纯度 99.8%, aladdin 公司),甲醇(光谱纯, Merck 公司),实验用水为经 Millipore 处理的超纯水。

1.2 标准溶液配制 标准储备液(1.0 mg/ml):准确称取 10.0 mg 丙烯酰胺标准品,用甲醇溶解并定容至 10 ml,配得浓度为 1.0 mg/ml 的标准储备液。标准中间液 I(10 mg/L):吸取标准储备液 100 μl 于 10 ml 容量瓶中,用甲醇定容至刻度,配得浓度为 10 mg/L 标准中间液 I。标准中间液 II(100 μg/L):吸取标准中间液 I 100 μl 于 10 ml 容量瓶中,用甲醇定容至刻度,配得浓度为 100 μg/L 标准中间液 II。分别吸取标准中间液 I 0.50、1.0、2.0、5.0 ml 于 10 ml 容量瓶中,用甲醇定容至刻度配制浓度为 0.50、1.00、2.00、5.00 mg/L 的标准系列;分别吸取标准中间液 II 0.10、0.25、0.50、1.0、2.5、5.0 ml 于 10 ml 容量瓶中,用甲醇定容至刻度配制浓度为 1.00、2.50、5.00、10.0、25.0、50 μg/L 的标准系列。

1.3 色谱条件 色谱柱:Waters Atlantis T3 柱(100 mm×2.1 mm, 1.7 μm),柱温:室温,流动相:甲醇+水(0.1%甲酸)=5+95,流速:0.3 ml/min,进样量:10 μl。

1.4 质谱条件 电喷雾源(ESI),正离子方式,多反应监测(MRM),毛细管电压:0.50 kV;锥孔电压:35 V;脱溶剂气温度:500 ℃;脱溶剂气流速:800 L/h;锥孔气流量:150 L/h;碰撞气:氩气;碰撞能量:35 eV;丙烯酰胺:母离子为 72,子离子为 55。

1.5 实验方法 聚丙烯酰胺水处理剂:称取 3.0 g 试

样于干燥的 250 ml 具塞磨口锥形瓶中,移取 30 ml 甲醇-水(1+1)混合溶剂,盖上瓶塞,摇动锥形瓶,使试样分散均匀,室温放置 20 h,然后将锥形瓶固定在振荡器上,室温下振荡 4 h,静置后取上清液,过膜上机。水样:样品预先通过 0.45 μm 滤膜过滤,除去杂质。取 100 ml 过滤后的水样通过固相萃取柱(固相萃取柱预先依次用 5.0 ml 甲醇、5.0 ml 水进行活化),用氮气干燥固相萃取柱,然后用 10 ml 甲醇洗脱,收集洗脱液,用氮气将洗脱液吹至近干,用 1.0 ml 超纯水复溶,过膜上机。

2 结果

2.1 方法的线性范围和检出限 将标准系列溶液在选定的色谱和质谱条件下进行测定。结果表明丙烯酰胺在 1.00~100.0 μg/L 浓度范围内,线性良好,标准曲线回归方程为 $y=4\,326.8x+1\,124.4$, $r=0.999\,3$ 。在 0.50~10.0 mg/L 浓度范围内,标准曲线回归方程为 $y=455\,392x+4\,562.7$, $r=0.999\,8$ 。以色谱峰 3 倍信噪比(S/N=3)对应浓度为检出限(LOD),10 倍信噪比(S/N=10)对应浓度为定量限(LQD)。检出限为 0.2 μg/L,定量限为 0.6 μg/L;按方法前处理方式,则方法检出限分别为 2 μg/kg 和 0.000 2 μg/L,定量限为 6 μg/kg 和 0.000 6 μg/L。

2.2 回收率和精密度 分别在丙烯酰胺残留量为 242 mg/kg 的聚丙烯酰胺水处理剂和空白水样中加入三个添加浓度的丙烯酰胺标准溶液,按 1.5 前处理方式处理后,测定。从表 1 可以看出方法回收率为 95.0%~102%,相对标准偏差(RSD)为 2.3%~4.7%。方法回收率和精密度均满足理化分析指标。

表 1 丙烯酰胺的回收率及精密度($n=6$)

样品	加入量	测定值	回收率(%)	RSD(%)
聚丙烯酰胺水处理剂	125 mg/kg	362 mg/kg	96.0	3.7
	250 mg/kg	487 mg/kg	97.9	2.8
	500 mg/kg	752 mg/kg	102.0	2.3
水样	1.0 μg/L	0.95 μg/L	95.0	4.7
	2.0 μg/L	1.93 μg/L	96.4	3.9
	4.0 μg/L	3.96 μg/L	98.9	3.1

2.3 实际样品的测定 采用本方法对实验室采集的聚丙烯酰胺样品进行测定,丙烯酰胺单体含量为 0.004 6%~0.037%,符合水处理剂聚丙烯酰胺的技术要求。同时对多个水厂采集的水样进行测定,未检出丙烯酰胺。

3 讨论

3.1 色谱条件的优化 聚丙烯酰胺残留单体-丙烯酰胺为高极性小分子,在普通反相色谱柱上,即使以 100%水作为流动相,也很难得到很好地保留。试验

Waters BEH C18, Waters Atlantis T3 和 YMC-Pack CN 色谱柱对丙烯酰胺的保留效果。发现 Waters Atlantis T3 对丙烯酰胺有相对较长的保留时间,并且有效改善色谱峰拖尾现象。比较了甲醇-水,甲醇-0.1%甲酸水和甲醇-10 mmol 乙酸铵(0.1%甲酸)流动相体系,同时采用大比例水对样品进行分离,但水相比比例过高,会使色谱峰峰形变宽,不利于丙烯酰胺的定性与定量。图 1 表明采用甲醇-0.1%甲酸水(5:95, v/v)能有效分离丙烯酰胺。

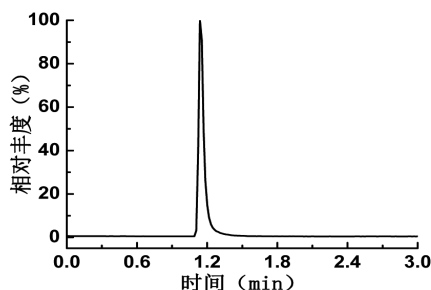


图 1 丙烯酰胺标准(2.5 µg/L)的色谱图

3.2 固相萃取条件的优化 丙烯酰胺极性大,在水中溶解能力强,给富集带来困难。目前有多种固相萃取柱用于丙烯酰胺的萃取,但应用范围主要集中在食品的处理。如 Henares 等^[10]用 HLB 与阳离子交换柱 MCX 联用对土豆片中丙烯酰胺进行萃取,回收率达到 98%。Bermudo 等^[11]采用 Strata-X-C 固相萃取小柱联合 ENV+固相萃取柱对食品中丙烯酰胺进行净化,回收率为 85%以上。比较 HLB 柱, C18 柱, Carb/NH₂ 基柱,碱性氧化铝柱和自制活性炭柱对丙烯酰胺的富集效果。结果表明活性炭柱富集能力强,回收率达 94.6%,其次为 CARB/NH₂ 基柱和碱性氧化铝柱,回收率分别为 57.3%和 43.9%。而 HLB 柱和 C18 柱对丙烯酰胺几乎没有保留。HLB 柱和 C18 柱为非极性反相萃取柱,对强极性物质的保留很弱,主要起纯化样液的作用。活性炭具有纳米孔结构,比表面积大,对极性小分子的吸附能力强,而且价格低廉,是理想的固相萃取柱填料,见图 2。

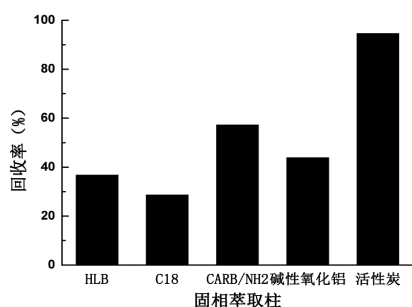


图 2 不同固相萃取柱对丙烯酰胺的富集效果

丙烯酰胺分子极性很强,因此采用极性较强的有

机物作为洗脱溶剂。选择甲醇、95%甲醇、90%甲醇、三氯甲烷、乙腈各 10 ml 对吸附在活性炭柱的丙烯酰胺进行洗脱,结果表明:90%甲醇洗脱能力最好,回收率达到 98.9%,95%甲醇回收率为 98.7%,甲醇其次,回收率为 97.2%,乙腈及三氯甲烷洗脱能力较弱,回收率分别为 84.3%和 56.3%。E. Bermudo 等^[11]认为加入少量水有助于提高洗脱能力。但加入 10%的水对比纯甲醇回收率并无显著提高,而且加入水后导致吹干时间明显增加,因此选择甲醇作为洗脱剂,见图 3。

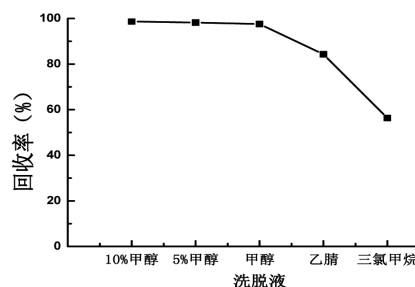


图 3 不同洗脱液对丙烯酰胺回收率影响

3.3 结论 建立了聚丙烯酰胺水处理剂和饮用水中丙烯酰胺的液相色谱串联质谱测定方法。分别采用甲醇直接提取和采用活性炭柱富集,甲醇洗脱的前处理方式。丙烯酰胺在 1.0 ~ 100.0 µg/L 和 0.50 ~ 10.0 mg/L 质量浓度范围,线性良好。方法回收率为 95.0%~102%,RSD 为 2.3%~4.7%。该方法灵敏度高、准确度高,适用于聚丙烯酰胺水处理剂和饮用水中丙烯酰胺的测定。

参考文献

- [1] 朱阳阳,金二索,宋军龙,等. 两性聚丙烯酰胺的性质、合成与应用研究进展[J]. 化工进展,2015,34(4):758-765.
- [2] 陈蓓蓓.液液小体积萃取气相色谱法测定水中丙烯酰胺[J]. 环境科学与技术,2012,36(1):97-100.
- [3] Kawata K, Ibaraki T, Tanabe A, et al. Gas chromatographic-mass spectrometric determination of hydrophilic compounds in environmental water by solid-phase extraction with activated carbon fiber felt[J]. J Chromatogr A, 2001,911(1):75-83.
- [4] 许欢,巢猛,李慧.水中痕量丙烯酰胺的气相色谱-质谱测定法[J]. 环境与健康杂志,2009,26(10):917-919.
- [5] 张勃,祁悦,高赫男,等.固相萃取膜技术用于自来水中丙烯酰胺的测定[J]. 色谱,2010,28(12):1196-1199.
- [6] Feng JL, Chen DY, Wang YH, et al. Determination of acrylamide in water by liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry[J]. LC-GC Asia Pacific, 2014,17(2):6-10.
- [7] 熊杰,钱蜀,谢永洪,等.高效液相色谱-串联质谱法同时测定水中丙烯酰胺、苯胺和联苯胺[J]. 分析化学,2014,42(1):93-98.
- [8] 伊燕敏,顾海东,秦宏兵.超高效液相色谱三重四级杆质谱联用法测定水中丙烯酰胺[J]. 环境监测与预警,2012,4(1):20-22.
- [9] Cavalli S, Polesello S, Saccani G. Determination of acrylamide in drinking water by large-volume direct injection and ion-exclusion chromatography-mass spectrometry[J]. J Chromatogr A, 2004,1039(1-2):155-159.
- [10] Rufian-Henares JA, Morales FJ. Determination of acrylamide in potato chips by a reversed-phase LC-MS method based on a stable isotope dilution assay[J]. Food Chem, 2006,97(3):555-562.
- [11] Bermudo E, Moyano E, Puignou L, et al. Determination of acrylamide in foodstuffs by liquid chromatography ion-trap tandem mass-spectrometry using an improved clean-up procedure[J]. Analytica Chimica Acta, 2006,559(2):207-214.

收稿日期:2018-02-08