· 监测技术 ·

# 固相萃取 - 高效液相色谱法测定水中微囊藻毒素质量控制指标研究

胡冠九[1], 李娟[1], 袁力[1], 夏新[2]
(1. 国家环境保护地表水有机污染监测分析重点实验室, 江苏省环境监测中心, 江苏　南京　210036 ;
2. 中国环境监测总站, 北京　100012 )

**摘　要:** 采用固相萃取 - 液相色谱法, 通过统计全国多家实验室的测定数据, 对水中微囊藻毒素测试的平行样测定相对偏差、空白加标回收率、实际样品加标回收率、空白加标回收率平行样相对偏差以及样品加标回收率平行样相对偏差 5 个质控指标进行了研究, 并给出了质控指标评价标准, 提出在概率 $P$ 和 $\gamma$ 均为 0.90 时, 其平行样测定允许最大相对偏差应控制在 7.3% ; 空白加标质量浓度为 0.005 ~ 20 μg/L 时, 回收率的控制范围为 61% ~ 125% ; 样品测定浓度为未检出、加标质量浓度在 0.2 ~ 3.6 μg/L 时, 实际样品加标回收率控制范围为 66% ~ 108% ; 空白加标、样品加标回收率平行样最大相对偏差应分别控制在 3.9% 和 8.9% 。在概率 $P$ 和 $\gamma$ 均为 0.95 时, 其平行样测定允许最大相对偏差应控制在 8.3% ; 空白加标质量浓度为 0.005 ~ 20 μg/L 时, 回收率的控制范围为 49% ~ 137% ; 样品测定浓度为未检出、加标质量浓度在 0.2 ~ 3.6 μg/L 时, 实际样品加标回收率控制范围为 60% ~ 114% ; 空白加标、样品加标回收率平行样最大相对偏差应分别控制在 5.2% 和 14.8% 。

**关键词:** 微囊藻毒素; 质控指标; 平行样相对偏差; 空白回收率; 样品回收率; 空白加标回收率平行样相对偏差; 样品加标回收率平行样相对偏差

**中图分类号:** X832　　**文献标识码:** A　　**文章编号:** 1674 - 6732(2014)04 - 0013 - 04

## Research of Quality Control Index for Microcystin in Water Determined by SPE-HPLC

HU Guan-jiu[1], LI Juan[1], YUAN Li[1], XIA Xin[2]
(1. *State Environmental Protection Key Laboratory of Monitoring and Analysis for Organic Pollutants in Surface Water*, *Jiangsu Environmental Monitoring Center*, *Nanjing*, *Jiangsu* 210036, *China*; 2. *China National Environmental Monitoring Center*, *Beijing*, 100012, *China*)

**Abstract:** Five quality control index of microcystin, including relative bias of duplicates, recovery of blank spike sample spike, relative bias of blank spike duplicates and relative bias of sample spike duplicates, were studied by evaluating data collected from many labs national widely using the method of SPE HPLC. The quality control index were produced. The results showed that when the probability of both $P$ and $\gamma$ were 0.90, the maximum relative bias of duplicates should be within 7.3% ; the blank recovery should be within 61% ~ 125% when the spiking concentration was 0.005 ~ 20 μg/L; the sample recovery should be within 61% ~ 125% when the microcystin was not detected in all the samples and the spiking concentration was 0.2 ~ 3.6 μg/L; the maximum relative bias of blank spike duplicates should be within 3.9% , and the maximum relative bias of sample spike duplicates should be within 8.9% . When the probability of both $P$ and $\gamma$ were 0.95, the maximum relative bias of duplicates should be within 8.3% ; the blank recovery should be within 49% ~ 137% when the spiking concentration was 0.005 ~ 20 μg/L; the sample recovery should be within 60% ~ 114% when the microcystin was not detected in all the samples and the spiking concentration was 0.2 ~ 3.6 μg/L; the maximum relative bias of blank spike duplicates should be within 5.2% , and the maximum relative bias of sample spike duplicates should be within 14.8% .

**Key words:** Microcystin; Quality control index; Relative bias of duplicates; Blank recovery; Sample recovery; Relative bias of blank spike duplicates; Relative bias of sample duplicates

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。80% 的蓝藻水华都

**收稿日期:** 2014 - 04 - 11; **修订日期:** 2014 - 05 - 16
**基金项目:** 环保公益性行业科研专项项目(200809140)。
**作者简介:** 胡冠九(1969—), 女, 研究员级高工, 博士, 从事环境监测与管理工作。

可以检测出次生代谢产物——微囊藻毒素(MCs),它对水体环境和人群健康的危害已成为全球关注的重大环境问题之一。目前水中 MCs 的国家标准测定方法是固相萃取 - 高效液相色谱法和间接竞争酶联免疫吸附法(GB/T 20466—2006)以及固相萃取 - 液相色谱法(GB/T 5750. 8—2006)。对于测定结果的质量控制,在 GB/T 20466—2006 规定的方法中,仅规定了对"同一水样,两次平行测定结果之差,不得超过平均值的 10%",质控指标偏少;GB/T 5750. 8—2006 中,给出了"精密度"和"准确度"的参考值,其中"精密度"和"准确度"是 2 个实验室对 MCs 进行 6 次重复测定而获得的,而在日常样品分析时(非样品考核、能力验证等),分析人员往往没有必要对同一水样进行 3 次以上的重复测定,也不太可能就一个样品,去寻找其他实验室进行平行测定。因此"精密度"和"准确度"这 2 个质控指标在日常分析工作中指导意义并不大,需要研究在日常工作中,实用、有效的质控指标及其评价标准。

笔者以 MCs 的固相萃取 - 液相色谱法测定为例,研究了实用的有机污染物监测质控指标,为其他有机污染物的质控指标体系研究提供参考。

## 1　质控指标研究内容

以实验人员在日常分析工作中"自我控制"为目的,建立相应的质控指标及评价体系,以期掌握日常批量数据的分析质量。由于水中微囊藻毒素 - LR 测定的前处理方法主要为固相萃取法,测定方法主要为液相色谱法、液相色谱/质谱分析法(LC/MS)和酶联免疫法等,其中固相萃取 - 液相色谱法为全国环境系统普遍采用的方法,因此文中主要研究固相萃取 - 液相色谱法测定水中 MCs 时,平行样测定结果的相对偏差、空白加标回收率、实际样品加标回收率、空白加标回收率相对偏差及样品加标回收率相对偏差等 5 个质控指标的定量评价标准。

## 2　数据来源

用全国 13 个省的 14 家实验室(9 个省级、5 个地市级环境监测站)实验室在 2005—2009 年实际测定地表水获得的数据来计算质控指标。具体监测数据来源见表 1。

**表 1　质控指标计算的数据来源**

| 质控类别 | 序号 | 质控指标 | 基础数据类型 | 数据来源 |
|---|---|---|---|---|
| 精密度 | 1 | 平行样相对偏差最大允许值 | 样品平行样的相对偏差均值 | 5 个省的 5 家实验室 |
| | 2 | 空白加标回收率平行样相对偏差最大允许值 | 空白加标回收率及其平行样回收率实测值 | 5 个省的 5 家实验室 |
| | 3 | 实际样品加标回收率平行样相对偏差最大允许值 | 样品加标回收率及其平行样回收率实测值 | 3 个省的 3 家实验室 |
| 准确度 | 4 | 空白加标回收率允许范围 | 空白加标回收率均值 | 7 个省的 7 家实验室 |
| | 5 | 样品加标回收率允许范围 | 实际样品的加标回收率实测值 | 7 个省的 19 家实验室 |

## 3　数据统计方法

对获得的监测数据进行统计检验,剔除异常值。统计检验的方法有:

(1)Dixon 检验法:在剔除水平 $\alpha = 1\%$ 的情况下,采用单侧检验,进行异常值判别[1]。除实际样品加标回收率测定值外,其他指标均用 Dixon 检验法检验。

(2)拉依达(Pauta)准则检验法:用于统计的实际样品加标回收率数据是各实验室不同浓度水平下的单个实测值,数据量较大,用拉依达(Pauta)准则来剔除异常值[2]。

## 4　结果与讨论

### 4.1　平行样测定结果的相对允许偏差

根据误差的正态分布统计结果,设一组平行样监测数据均值为 $\bar{x}$,标准偏差为 $s$,在实际测定中,由于样本量不可能趋于无穷大,引进了"统计容许限"概念。$\bar{x} \pm ks$ 的单次测定的统计容许限(或称"统计容许区间")的意义:在任何一次测定中,绝对误差 $|x_i - \bar{x}|$ 在容许限 $ks$ 内的概率不小于概率 $P$,这一事件的概率为 $\gamma$。$k$ 值是概率 $P$、概率 $\gamma$ 和测定次数 $n$ 的函数,有表可查[3]。

统计全国 5 个省的 5 家实验室对 MCs 的实际样品平行测定数据(笔者所述平行测定数量均为 2,下同),其相对偏差的平均值($\bar{D}_x$,%)为 4.5,标准偏差($\bar{D}_x$,%)为 1.0。假设平行样测定的实验室足够多,则平行样测定结果相对偏差应符合正态分布,所以将 5 家实验室的平行样测定结果相对偏差视为属于同一样本的 5 次测定,则不同概率 $P$、概率 $\gamma$ 下的 $k$ 值及平行样相对偏差均值的高值单侧容许

限详见表 2。当 $\gamma$ 为 0.90, $P$ 为 0.90 时,查正态分布单侧容许限因子 $k_{(0.90,0.90,5)}=2.742$, MCs 平行样测定允许最大相对偏差 $\bar{D}_{xU}=\bar{D}_x+k\cdot s=7.3\%$ ,即有 90% 的把握认为,"平行样测定值相对偏差"单次值将会 <7.3%。当 $\gamma$ 为 0.95, $P$ 为 0.95 时,平行样测定允许最大相对偏差为 8.8%。

**表 2　5 个实验室平行样相对偏差平均值的高值单侧容许限**

| $n$ | $\bar{D}_x$ | $s$ | $\gamma$ | $P$ | $k$ | $\bar{D}_{xU}$ |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 5 | 4.5 | 1.0 | 0.90 | 0.90 | 2.742 | 7.3 |
| | | | 0.95 | 0.95 | 4.202 | 8.8 |

本次测试的 5 个实验室中,所有实验室的平行样相对偏差的最大值均 <7.3% 或 8.8%,即 100% 满足上述要求。上述相对偏差的合理性可用以下几方面来进一步验证:全国 5 个省的 5 家实验室测定微囊藻毒素时,所测定的空白加标回收样及其平行样测定值的相对偏差均 <7.3% 或8.8%;全国 3 个省的 3 家实验室测定微囊藻毒素时,所测定的实际样品加标回收样及其平行样测定值的相对偏差也均 <7.3% 或 8.8%,因此,文中所规定的平行样的相对偏差为 7.3% 或 8.8% 是可行的。

### 4.2　空白样品的加标回收率及其平行

7 个实验室的空白加标质量浓度在 0.005 ~ 20 μg/L 区间内时,不同质控目标下的实验室空白加标回收率均值 $\bar{R}$、空白加标回收率最低容许限 $\bar{R}_{1L}$ 和最高容许限 $\bar{R}_{1U}$ 见表 3。

**表 3　7 个实验室空白加标回收率的双侧容许限**

| $n$ | $\bar{R}$ | $s$ | $\gamma$ | $P$ | $k$ | $\bar{R}_{1L}$ | $\bar{R}_{1U}$ |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 7 | 93.2 | 10.9 | 0.90 | 0.90 | 2.902 | 61.4 | 125 |
| | | | 0.95 | 0.95 | 4.007 | 49.4 | 137 |

上述加标回收率范围的合理性可用文献报道来进一步比较、验证。薛罡等[4]对空白样品加标 1.0 μg/L 进行回收率的测定,得到测定结果的平均加标回收率为 94.9%。张维昊等[5]对空白样品加标 0.560 μg/L 进行回收率统计,得到测定结果的加标回收率为 88.3%。卫涛等[6]对空白样品加标 1.0 ~ 6.0 μg/mL 进行回收率的测定,得到测定结果的平均加标回收率为 92.27% ~ 95.50%,都落在文中给出的参考指标范围内。

统计全国 5 个省的 5 家实验室对 MCs 的空白加标回收率测定值($R_1$,%)、相应平行样测定值($R_2$,%),其相对偏差 $\bar{D}_R$ 以及不同概率 $P$、概率 $\gamma$ 平行样相对偏差均值的高值单侧容许限 $\bar{D}_{RU}$ 详见表 4。

**表 4　5 个实验室空白加标平行样相对偏差的高值单侧容许限**

| $n$ | $\bar{D}_R$ | $s$ | $\gamma$ | $P$ | $k$ | $\bar{D}_{RU}$ |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 5 | 1.6 | 0.9 | 0.90 | 0.90 | 2.742 | 3.9 |
| | | | 0.95 | 0.95 | 4.202 | 5.2 |

上述空白加标平行样相对偏差的合理性可用文献报道来进一步论证。李小敏等[7]测定空白水样加标及其平行样,相对偏差为 0.6% ~ 12.7%。邓义敏等[8]测定加标 1.0 ng/L 的空白水样及其平行样,相对偏差为 0.6% ~ 3.6%。薛罡等[4]测定加标 1.0 μg/L 的空白水样及其平行样,相对偏差为 0.4% ~ 2.8%。张维昊等[5]测定加标 0.560 μg/L 的空白水样及其平行样,相对偏差为 0.21% ~ 7.10%。卫涛等[6]测定加标 1.0 μg/mL 的空白水样及其平行样,相对偏差为 0.52% ~ 5.40%,基本上与文中给出的参考范围吻合。

### 4.3　实际样品的加标回收率及其平行

19 个实验室的样品测定浓度在未检出、加标质量浓度在 0.2 ~ 3.6 μg/L 区间内时,不同质控目标下的实验室样品加标回收率均值 $\bar{r}_1$、样品加标回收率最低容许限 $\bar{r}_{1L}$ 和最高容许限 $\bar{r}_{1U}$ 见表 5。

**表 5　19 个实验室实际样品加标回收率均值的双侧容许限**

| $n$ | $\bar{r}_1$ | $s$ | $\gamma$ | $P$ | $k$ | $\bar{r}_{1L}$ | $\bar{r}_{1U}$ |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 19 | 87.7 | 9.2 | 0.9 | 0.9 | 2.172 | 67.8 | 108 |
| | | | 0.95 | 0.95 | 2.784 | 62.2 | 113 |

上述样品加标回收率范围的合理性可用文献报道来核实。区晖等[9]对实际样品加标1.0 μg/L 后进行回收率测定,结果为 91% ~ 103%。邓义敏等[8]对实际样品加标 1.0 ng/L 后进行回收率测定,结果为 78%。吴伟文等[10]对实际样品加标 5.85 ~ 23.38 μg/L 后进行回收率测定、统计,结果为 89% ~ 100%。

统计全国 3 个省的 3 家实验室对 MCs 的实际样品加标回收率测定值($r_1$,%)、相应平行样测定值($r_2$,%),其相对偏差 $\bar{D}_r$ 以及不同概率 $P$、概率 $\gamma$ 平行样相对偏差均值的高值单侧容许限 $\bar{D}_{rU}$ 详见表 6。

**表 6　3 个实验室实际样品加标平行样相对偏差的高值单侧容许限**

| $n$ | $\bar{D}_r$ | $s$ | $\gamma$ | $P$ | $k$ | $\bar{D}_{rU}$ |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 3 | 1.5 | 1.7 | 0.90 | 0.90 | 4.258 | 8.9 |
| | | | 0.95 | 0.95 | 7.655 | 14.8 |

固相萃取 - 高效液相色谱法测定水中微囊藻毒素的质控指标建议值详见表 7,这些质控指标比 MCs 测定国标方法给出的质控指标要全面,范围能够涵盖相关文献报道值,并有所放宽,能反映实际工作情况,更有利于日常监测工作质量的保障。

## 5　结论

**表 7　微囊藻毒素测定质控指标**

| 项目 | 分析方法 | 概率 | 样品平行相对偏差/% | 空白加标 加标质量浓度/(μg·L$^{-1}$) | 空白加标 回收率低限/% | 空白加标 回收率高限/% | 空白加标 测定质量浓度/(μg·L$^{-1}$) | 样品加标 加标质量浓度/(μg·L$^{-1}$) | 样品加标 回收率低限/% | 样品加标 回收率高限/% | 空白加标回收率平行样相对偏差/% | 样品加标回收率平行样相对偏差/% |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 微囊藻毒素 | 固相萃取 - 高效液相色谱法 | $k=0.90$, $\gamma=0.90$ | 7.3 | 0.005 ~ 20 | 61 | 125 | 未检出 | 0.2 ~ 3.6 | 66 | 108 | 3.9 | 8.9 |
| | | $k=0.95$, $\gamma=0.95$ | 8.3 | | 49 | 137 | | | 60 | 114 | 5.2 | 14.8 |

### [参考文献]


[1] 中国环境监测总站《环境水质监测质量保证手册》编写组. 环境水质监测质量保证手册[M]. 北京:化学工业出版社,1994.

[2] 张敏,袁辉. 拉依达(Pauta )准则与异常值剔除[J]. 郑州工业大学学报,1997,18(1):84 - 88.

[3] 蒋子刚,顾雪梅. 分析检验的质量保证和计量认证[M]. 上海:华东理工大学出版社,1998:56.

[4] 薛罡,杨林,龚清杰,等. 高效液相色谱法测定水中微囊藻毒素[J]. 中国给水排水,2009,25(22):90 - 92,97.

[5] 张维昊,徐小清. 固相萃取高效液相色谱法测定水中痕量微囊藻毒素[J]. 分析化学研究报告,2001,29(5):522 - 525.

[6] 卫涛,冯小刚,袁春伟,等. 水中痕量微囊藻毒素的检测[J]. 环境科学研究,2005,18(5):15 - 17,33.

[7] 李小敏,何佶,陈琦涛. SPE/HPLC 测定水中的微囊藻毒素 - LR[J]. 城镇供水,2008(7):55 - 57.

[8] 邓义敏,周皖云,周俊杰,等. 高效液相色谱法测定水体中四种微囊藻毒素[J]. 城镇供水,2006(1):41,65.

[9] 区晖,周志洪,吴清柱. 高效液相色谱法测定地表水中的微囊藻毒素 - LR[J]. 广州化学,2009,34(1):50 - 53.

[10] 吴伟文,杨左军,顾浩飞,等. 固相微萃取/高效液相色谱法测定水中的微囊藻毒素[J]. 分析测试学报,2007,26(4):545 - 547.


(上接第 5 页)


[2] ZHANG Y H,SU H,ZHONG L J. Regional ozone pollustion and observation-based approach for analyzing ozone-precursor relationship during the PRIDE-PRD2004 campaigh[J]. Atmospheric Environment,2008,42:6203 - 6218.

[3] 谢庆裕. 珠三角多地连续 4 天臭氧污染[N]. 南方日报,2012 - 03 - 30.

[4] SHAO M,ZHANG Y H,ZENG L M. Groud-level in the Pearl River Delta and the roles of VOC and NOx in its production[J]. Journal of Environmental Management,2009,90:521 - 518.

[5] 周炎,岳玎利,钟流举,等. 广东鹤山地区夏季大气中 PAN 污染特征[J]. 环境监测管理与技术,2013,25(4): 24 - 27.

[6] CARTER W P L. Development of ozone reactivity scales for volatile organic-compounds[J]. Journal of The Air & Waste Management Association,1994,44(7): 881 - 899.

[7] 解鑫,邵敏,刘莹,等. 大气挥发性有机物的日变化特征及在臭氧生成中的作用——以广州夏季为例[J]. 环境科学学报,2009,29(1): 54 - 62.

[8] 罗玮,王伯光,刘舒乐,等. 广州大气挥发性有机物的臭氧生成潜势及来源研究[J]. 环境科学与技术,2011,34(5):80 - 86.

[9] KAI H L ,ZIBING Y ,JIAN Z Y ,et al,. Source apportionment of ambient volatile organic compounds in Hong Kong[J]. Science of the Total Environment,2010,408:4138 - 4149.

[10] SEILA R L,MAIN H H,ARRIAGA J L,et al,. Atomospheric volatile organic compounds measurements during the 1996 Paso Del Norte ozone study[J]. Sci Total Environ,2001,276: 153 - 169.

[11] TSAI W Y,CHAN L Y,BLAKE D R,et al,. Vehicular fuel composition and atmospheric emission in South China: Hong Kong, Macau,Guangzhou,and Zhuhai[J]. Atmos Chem Phys,2006,6: 3281 - 3288.

[12] FUJITA E M. Hydrocarbon source apportionment for the 1996 Paso del Norte ozone study[J]. Sci Total Environ,2001,276: 171 - 184.


(栏目编辑　李文峻)