

圆盘膜萃取、色质联用仪及选择离子法(SIM) 定量分析水中有机氯农药

俞是聃

(福建省环境监测中心站, 福建 福州 350003)

摘要:通过圆盘膜萃取提取水中有机氯农药,并用气质联用仪及选择离子(SIM)进行样品定量分析,加标回收率在 75%~125%,测定检出限达到 pg/mL 级(10^{-12})水平。

关键词:圆盘膜萃取;色质联用仪;选择离子法(SIM);水;有机氯农药

中图分类号:O657.63; S482.3 **文献标识码:**A **文章编号:**1004-2997(2006)04-209-06

Determination of Organochlorine Pesticides by SPE Disk Extraction-GC/MS with Selected Ion Monitoring Mode

YU Shi-dan

(Fu Jian Province Environmental Monitoring Centre, Fuzhou 350003, China)

Abstract: Organochlorine pesticides in water were extracted by disk extraction, and the extracted solution was analyzed quantitatively by GC/MS with selected ion monitoring mode. The recovery was 75%~125%. The detection limit was pg/mL level.

Key words: disk extraction; gas chromatograph-mass spectrometer; selected ion monitoring; water; organochlorine pesticides

有机氯农药是一类含氯有机化合物,曾因广谱、高效、价廉、急性毒性小而广泛使用。有机氯农药具有高度的化学、物理和生物学的稳定性^[1],半衰期长达数年,在自然界极难分解。由于有机氯农药的脂溶性强,在食品加工过程中经单纯的洗涤不能去除,容易在人体内蓄积,其慢性毒性作用主要表现在侵害肝、肾及神经系统,动物实验证实有致畸、致癌甚至致突变的“三致”作用,因此在很多国家已相继被禁用,我国 1983 年停止生产,1984 年停止使用这类农药,但保留 DDT 农药登记和六氯苯的生产,分别作为生产

三氯杀螨醇和五氯酚(钠)的中间体。环境中残留的及新产生的有机氯农药通过各种途径危害人体健康和环境安全,在水体中含量极低但对人体危害极大,其含量大多在 pg/mL 级,而国内现有气质联用法(EI 源)测定有机氯农药方法检出限高,无法满足分析的要求。为满足分析需要,本文在国内标准监测分析方法的基础上,借鉴国外先进的分析方法体系,如美国 EPA525 方法^[2],建立了圆盘萃取、色质联用仪及选择离子法(SIM)定量分析水中有机氯农药的分析方法。通过使用圆盘膜萃取,大大缩短样品的前处理时

间,萃取效率良好且可增加样品的取样量,同时利用 GC/MS 法的选择离子法(SIM)扫描,有效提高方法灵敏度、降低背景干扰、降低方法测定检出限,检出限达到 pg/mL 级(10^{-12})水平。本方法的检出限优于美国 EPA525.2 方法的检出限^[2],比美国 EPA525.2 方法的检出限低 2~3 个数量级,能满足对水样分析的要求。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

6890/5973N(美国 Agilent 公司)气相色谱-质谱仪;圆盘 SPE 装置(ENVI-18DSK)及 47 mm envi-C₁₈ 的固相萃取膜(美国 Supulco 公司);12 管氮吹仪(N-EVAP™ 111);医用数控超声波清洗器(KQ-500DE 型)(昆山市超声仪器有限公司);微量注射器($10\ \mu\text{L}$)。

试剂用水:蒸馏水过纯水仪后制成纯净水(电导率 $18.2\ \text{M}\Omega$),所得的纯净水中应无干扰测定的杂质;甲醇、二氯甲烷、乙酸乙酯、丙酮(均为进口优级纯);盐酸:4 mol/L;亚硫酸钠和无水硫酸钠(均为优级纯);标准中间液(购置浓度为 $100\ \text{mg/L}$ 标准贮备液,溶剂丙酮);内标和替代物添加液(购置丙酮配制的浓度为 $500\ \text{mg/L}$ 内标物和替代物)。

1.2 仪器的条件

毛细柱:HP-1MS (HP19091S-833) $30\ \text{m} \times 0.25\ \text{mm} \times 0.10\ \mu\text{m}$;GC 条件:载气(He)流量:1.0 mL/min(恒流),无分流进样;进样口温度:260 °C;柱箱程序升温:40 °C 保持 4 min,以 5 °C/min 升至 270 °C,15 °C/min 升至 300 °C,保持 5 min;MS 条件:离子源温度 230 °C;接口温度:300 °C;电子轰击能量:70 eV;质量扫描范围:45~450 amu;溶剂延迟:4.0 min;全扫描 SCAN 和 SIM 方式。SIM 扫描条件:Dwell:50~100 msec;目标:每个峰通过 15~25 次循环。SIM 分组时,一般使用低分辨率;但当选择离子差小于 3 时,使用高分辨率。SIM 选择目标化合物的特定离子见表 2 中 SIM 扫描离子。

1.3 测试步骤

1.3.1 样品的采集 样品必须采集在玻璃瓶中,在采样之前不能用水样预洗瓶子,水样必须注满容器,瓶中不留顶上空间和气泡,自采样后到萃取之前,所有样品必须 4 °C 冷藏并在暗处保存,为了消除余氯等氧化性的物质对水样的氯解

作用,在采样点加亚硫酸钠(1 L 约 40~50 mg),而后加入水,待水样快满瓶时,加入盐酸,使 $\text{pH} < 2$,目的是为了防止水样的生物降解,所有样品应在 14 天内完成样品的前处理。30 天内完成萃取物的分析。

1.3.2 样品制备 先使 envi-C₁₈ 膜活化(以反相膜 envi-C₁₈ 作为提取半挥发性有机物的分离膜,使用前依次用 5 mL $v(\text{乙酸乙酯}):v(\text{二氯甲烷})=1:1$ 的混合物淋洗萃取膜,以除去膜上杂质,浸渍冲洗时,用稳定的低真空保证膜和溶液有适当的接触时间),而后用 5 mL 的甲醇湿润萃取膜,先少量添加,使膜浸渍 1 min,然后添加剩余的甲醇,防止甲醇流干。再用 5 mL 的纯净水冲洗膜,保证膜在淋洗过程中不变干。接着在 5 L 的水样中添加 25 mL 甲醇,混和均匀。再往样品中添加 $10\ \mu\text{L}$ 的替代物混匀,其在水中浓度 $5\ \mu\text{g/L}$ 。以 $200\ \text{mL/L}$ 的速度过膜 5 L 的水样,并完全抽真空萃取,待萃取完,继续抽真空干燥 10 分钟。用 5 mL 乙酸乙酯冲洗瓶内壁,然后将溶液加入萃取膜,用同样的步骤冲洗分液漏斗,并调低真空度,保证膜和溶液有适当的接触时间。

用二氯甲烷重复以上步骤。然后再以两个 3 mL $v(\text{乙酸乙酯}):v(\text{二氯甲烷})=1:1$ 的混合物淋洗分液漏斗及加入萃取膜萃取,萃取液加入收集器中,合并萃取液。以上合并的萃取液流经 5~7 g 无水硫酸钠柱干燥,然后再以两个 3 mL $v(\text{乙酸乙酯}):v(\text{二氯甲烷})=1:1$ 的混合物淋洗无水硫酸钠柱。收集所有萃取液和洗液于同一浓缩管中。以上所有收集的淋洗液在浓缩管中,用氮吹仪浓缩至 $0.5\sim1.0\ \text{mL}$ (禁止浓缩至小于 $0.5\ \text{mL}$),加入 $10\ \mu\text{L}$ 的内标物($500\ \text{mg/L}$ 菲-d10)以乙酸乙酯定容至 1 mL。取 $2.0\ \mu\text{L}$ 进样。

1.3.3 内标法校正曲线 用 GC/MS 的 Scan 和 SIM 分别进行分析,使用菲-d10 作为内标,将内标物直接加入到每个曲线点中,配制 5 个点浓度 0、50、100、150、200 ng/L 的校正标准溶液,按样品分析法分析每个校正标准溶液,检查各组分的色谱行为和质谱灵敏度,要求色谱峰窄且对称,多数无拖尾,灵敏度高,按下式计算响应因子(RF):

$$\text{RF} = \frac{A_x C_{is}}{A_{is} C_x}$$

式中, A_x 、 A_{is} 分别为分析组分、内标物定量离子积分丰度; C_x 、 C_{is} 分别为被吹扫的分析组分、内标物的浓度。

计算每种组分、标记化合物的平均 RF; 平均 RF 的 RSD 应小于 20%。

1.3.4 定量计算 测得未知物的定量离子峰面积 A_x' 后, 根据校正曲线, 用公式

$$C_x' = \frac{A_x' C_{is}}{RFA_{is}}$$

计算实际样品浓度 C_x' 。上述过程由计算机软件处理完成。

2 结果与讨论

2.1 谱图

用谱图 1 中的保留时间和表 2 的保留时间对照, 可以确定谱图 1 中各峰的标准物质。测试条件见 1.2 中的仪器条件。

2.2 实验条件的选择

2.2.1 样品前处理的选择 从环境水样中富集分离半挥发性物质的方法有液液萃取、液固萃取及固相微萃取, 其中液固萃取又分圆筒型固相及圆盘型固相(即圆盘萃取)。

目前, 半挥发性有机物测定样品的前处理多用液液萃取法, 这一方法的缺点有: (1) 萃取操作需要反复多次进行, 操作步骤多, 样品转移的过程中容易引起损失, 引起误差的机会多, 重复性差; (2) 需要使用大量的溶剂, 不但对人体的健康有一定的影响, 而且对环境造成影响; (3) 处理过程中产生乳化现象; (4) 浓缩富集的倍数往往达不到环境质量标准的要求。本文采用目前国际

较为通用的有机物前处理方法——固相萃取法进行样品的前处理, 并对柱式(cartridge)固相萃取和圆盘固相萃取(disk)两种不同的固相萃取方式进行比较研究。认为圆盘固相萃取方式处理过程中不会产生乳化现象, 它采用高效、高选择性的吸附剂(固定相), 能显著减少溶剂的用量, 简化样品的处理过程, 同时所需费用也有所减少。一般说来固相萃取所需时间为液液萃取的 1/2, 费用为液液萃取的 1/5, 且处理的样品量大, 处理速度快, 不易堵塞, 可达到分析方法要求的前处理目的与效果。故选择圆盘固相萃取。

2.2.2 圆盘萃取条件的选择

(1) 圆盘萃取的分离模式选择非常重要, 一般应考虑以下几个方面^[3]:

待分离有机物极性应当与固相吸附剂极性匹配。一般而言, 非极性有机物分离应采用反相固相萃取; 中等极性有机物分离正反相两种模式都可以; 而亲水极性有机物应采用正相固相萃取。本实验采用反相圆盘型固相萃取。

固相萃取都是用固体吸附剂从液态样品中分离有机物, 因而待分离有机物所用的溶剂决定固体吸附剂和分离模式的选择。如溶解样品的溶剂是乙烷, 就不能选择反相固体萃取。反之, 若溶解样品的溶剂是水或甲醇, 则不能选择正相固体萃取。本实验测定水中有机物含量, 所用的溶剂是水和甲醇, 因而 env-C₁₈ 膜在使用前须依次用乙酸乙酯、二氯甲烷洗涤, 并用甲醇和试剂活化。本实验采用反相圆盘型固相萃取。

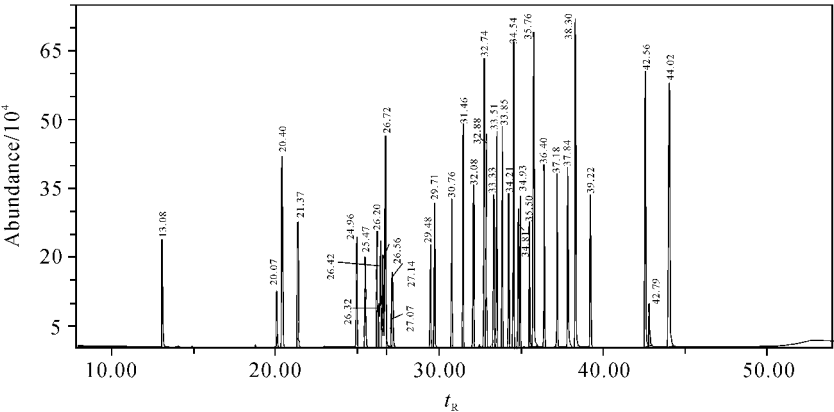


图 1 有机氯农药的标准谱图

Fig.1 Organochlorine pesticides standard spectrum

(2)圆盘型固相萃取膜的选择:通过实验选择 envi-C₁₈ 膜,envi-C₁₈ 膜为一个含有表面改良硅的多孔玻璃纤维基体,使用玻璃纤维基体可以实现高流速,同时又能减少微粒堵塞。envi-disk 基体厚而硬,可以捕获流经它的各种微粒。与之相比,聚四氟乙烯薄膜圆盘薄、软、易起皱,而且如果样品含有微粒,易堵塞。因此本实验选用 envi-C₁₈ 膜。

(3)圆盘型固相萃取流速的选择:通过实验选择减压萃取方式,萃取流速为:200 mL/min,在此条件下样品的准确度和精密度都能达到满意的结果。

(4)膜萃取过程的注意事项:用甲醇活化时要防止甲醇流干。而后用 5 mL 纯净水冲洗膜,保证膜在淋洗过程中不变干,以避免薄膜介质的空隙中形成空气-液体界面,降低萃取效率。

2.2.3 实验仪器条件的选择

(1)仪器的性能检验

向仪器中进样 1 μL 浓度为 50 ng/mL 的仪器性能检验标准(PEM),PEM 含有 p,p'-DDT 和异狄氏剂,使用时稀释成 50 ng/mL 的标准溶液。p,p'-DDT 和异狄氏剂的降解量应分别低于 20%,两者之和小于 30%。

如果仪器连续进行分析超过 12 h,则需重新分析 PEM。

(2)GC/MS 仪器调谐及质量标定

分析样品、做全扫描(SCAN)前,在自动调谐基础上,先用仪器厂家提供的校正标样全氟三丁胺(PFTBA)对仪器进行 DFTPP 调谐,并满足相应要求;针对 SVOC 测定,还需注入 1.0 μL 浓度为 50 μg/mL 的十氟三苯基磷(DFTPP)溶液,采集 m/z 45~450 之间的质谱图,其离子丰度应满足表 1 要求^[1]。根据全扫描结果,做选择离子(SIM)的选择分析前,先用仪器厂家提供的校正标样全氟三丁胺对仪器进行自动调谐,以提高灵敏度分析。

(3)色谱和质谱条件的选择

在上述色谱和质谱条件下,得到标准溶液的色谱图(见 2.1 谱图 1),并根据样品、加标样品的色谱图可知:在所采用的色谱和质谱条件下,目标组分得到了很好的分离,且未发现杂质峰的干扰。

表 1 十氟三苯基磷(DFTPP)离子丰度规范要求
Table 1 Ion abundance criteria for DFTPP

质荷比(m/z)	相对丰度规范
51	198 峰(基峰)的 30-60%
68	小于 69 峰的 2%
70	小于 69 峰的 2%
127	基峰的 40-60%
197	小于 198 峰的 1%
198	基峰,丰度 100%
199	198 峰的 5-9%
275	基峰的 10-30%
365	大于基峰的 1%
441	存在且小于 443 峰
442	基峰或大于 198 峰的 40%
443	442 峰的 17-23%

(4)特征离子的选择

在全扫描方式下,所有离子的响应信号都被采用,利用目标化合物的保留时间和主要离子的质荷比(m/z)确定待测组分,使检测结果更为可靠。待分析化合物得到最终确认需满足以下标准:1)目标化合物与标准化合物的保留时间偏差小于 10%;2)标准质谱图的相对离子丰度高于 10%以上,所有离子在样品质谱图要存在;3)目标化合物选择离子的相对丰度与标准化合物的偏差小于 20%。

全扫描方式下,所有离子的响应信号都被采用,每个离子采集时间短;而在选择离子检测方式下,仅对待测组分的定性和定量离子信号进行采集,因而大大提高了灵敏度,减少了杂质峰的干扰。从所使用 GC/MS 体系全扫描图谱中选择合适的离子,每种化合物选择两到三个离子。选择离子时应注意要减少样品杂质干扰,尤其是减少与目标化合物相近的流出杂质干扰,调整每一组保留时间(dwell time),以保证每个峰通过 15~25 次循环。选择离子应选择每一目标化合物高质量、丰度大、化合物特有的、最有特征的离子作为扫描的选择离子。同时还应考虑对称性高且重现性好的离子及选择与柱流失碎片离子不同的离子。

SIM 分组分配原则:前一个峰终点和后一个峰起点的间距(差)要大于 3 秒。分组时,基本在两个化合物中间偏后。

本实验的 SIM 选择目标化合物的特定离子

见表 1。

2.3 方法的准确度、精密度和检出限

加入标准,使其在 5 L 水样中浓度为 200 ng/L,重复圆盘萃取 3 次,计算各组分测定浓度及方法的准确度,用回收率表示。

配置浓度为 50 ng/L 的水样溶液,重复圆盘萃取 6 次,计算各组分的精密度,用相对标准偏差 RSD 表示,并用下式计算各组分的检出限 MDL;MDL=S * 3. 143,其中 S 为平行分析的标准偏差。

要求各组分及标记化合物的平均准确度应在 70%~130%之间,相对标准偏差 RSD 应小于 20%。

方法的检出限、精密度和准确度见表 2。

本方法的检出限优于 EPA525. 2 方法的检出限^[2],比 EPA525. 2 方法的检出限低 2~3 个数量级。

表 2 圆盘膜萃取、色质联用仪及选择离子法(SIM 法)的 SIM 扫描离子、回收率和精密度

Table 2 Scan ion, recovery and precision of using SPE disk extraction-GC/MS with selected ion monitoring mode									
排号	名称	Compound	保留时间 (min)	真值浓度 (ng/L)	实测浓度 (ng/L)	回收率 (%)	相对标准 偏差 RSD (%)	检出限 (ng/L)	SIM 扫描离子
1	氯唑灵	terrazole	20.09	200.00	165.96	82.9	1	1.54	211/183
2	地茂散	chloroneb	21.40	200.00	167.42	83.7	1.9	3.06	191/206
3	α 六六六	alpha-BHC	24.95	200.00	172.2	86.1	0.9	1.47	219/181
4	β 六六六	beta-BHC	25.48	200.00	166.48	83.2	0.7	1.03	219/183
5	γ 六六六	delta-BHC	26.19	200.00	158.63	79.3	3.9	6.12	219/181
6	西玛津	simazine	26.35	200.00	221.31	111	2.8	4.44	44/201
7	δ 六六六	gamma-BHC	26.44	200.00	217.64	109	14.9	23.4	219/181
8	阿特拉津	atrazine	26.60	200.00	246.25	123	2.5	3.93	200/215
9	百菌清	chlorothalonil	27.12	200.00	175.06	87.5	1.5	2.28	266/264
10	七氯	heptachlor	29.45	200.00	188.15	94.1	0.1	0.65	272/100
11	甲草氨(草不绿)	alachlor	29.70	200.00	162.76	81.4	0.7	1.15	160/188/45
12	艾氏剂	aldrin	30.73	200.00	162.52	81.3	1.2	1.86	263/66
13	四氯代对苯二甲 酸二甲酯	Dacthal	31.44	200.00	164.98	82.5	0.4	0.57	301/299/332
14	环氧七氯	heptachlor epoxide	32.05	200.00	168.04	84	0.3	0.48	353/355
15	α-氯丹	alpha-chlordane	32.84	200.00	160.06	80	14	21.33	373/375
16	硫丹 I	endosulfanI	33.30	200.00	201.38	101	1.1	1.56	241/195
17	γ-氯丹	gamma-chlordane	33.47	200.00	221.65	111	0.3	0.42	373/375
18	反式九氯	trans-nonachlor	33.82	200.00	206.88	103	0.2	0.39	409/407
19	狄氏剂	dieldrin	34.20	200.00	175.04	87.5	0.8	1.2	79/263
20	滴滴涕	p,p-DDE	34.51	200.00	171.57	85.8	0.7	1.05	246/318
21	异狄氏剂	endrin	34.78	200.00	211.32	106	5.2	8.16	81/263
22	硫丹 II	endosufanII	34.90	200.00	163.51	81.8	3.4	5.31	195/237
23	异狄氏醛	endrin aldehyde	35.48	200.00	218.14	109	4.2	6.6	345/67
24	滴滴滴	p,p-DDD	35.73	200.00	244.57	122	0.9	1.39	235/251
25	杀螨酯	chlorobenzilate	35.77	200.00	223.23	112	1.3	2.09	251/139
26	硫丹硫酸酯	endosufan sulfate	36.37	200.00	161.68	80.8	0.7	1.03	272/387/229
27	滴滴涕	p,p-DDT	37.15	200.00	221.66	111	1.1	1.65	235/237/165
28	甲氧滴滴涕	methoxychlor	39.19	200.00	143.36	71.7	3.2	5.1	227/228
29	顺-苄氯菊酯	cis-permethrin	42.52	200.00	234.47	117	1.5	2.37	183/163
30	反-苄氯菊酯	trans-permethrin	42.78	200.00	221.51	111	3.5	5.52	183/163

2.4 干扰的消除

在气相色谱中,干扰物与待测物在同一色谱柱具有相同保留时间现象经常发生,而在定量时又容易出现,特别是对污染物不明样品更容易造成假阳性。另一问题是只以色谱峰面积或峰高进行定量,常出现色谱峰响应值比较低,或被干扰峰包容,不能进行峰积分或峰积分不准确。气质联用仪及选择离子法分析定量,除保留时间外,还可根据质谱图及特征离子进行确认,这是解决这些问题有效方法。

2.5 提高仪器灵敏度的方法研究

在分析化学中,对于研究方法的本身,应从提高方法的灵敏度、选择性及分析速度,如何应用物理与化学中的理论来发展新颖的分析技术与方法,以满足环境监测对分析化学提出的新目标和新要求。特别是对于环境中有毒有害的有机污染物,其含量通常以痕量、超痕量的浓度水平存在于环境中,且样品的基体干扰物复杂。为此,提高仪器的灵敏度,方法检出限以及消除基体的干扰,以达到衡量监测的环境样品是否达到环境质量标准的要求,是环境中有毒有害的有机污染物测定技术的关键。本文采用 GC/MS 选择离子检测技术,即在 GC/MS 分析中选择高质量、丰度大、化合物特有的、最有特征的离子作为扫描的选择离子,连续加以检测,记录离子强度随时间的变化。在本实验条件下,一次可分离 30 种有机氯农药,大大提高了目标污染物的检出灵敏度,提高了分析物与基体以及其他干扰物质的分离度,从而达到改善方法灵敏度、选择性以及提高分析效率的目的。

2.6 质量保证/质量控制

2.6.1 溶剂空白 首先分别对所有使用的溶剂进行纯度考察。农残级的所有使用溶剂浓缩至 1.0 mL 后进样,只有酞酸酯检出,该增塑剂可能来自试剂瓶盖,因沸点较高而难以蒸馏除去,但其浓度接近方法检出限水平,可认为这些试剂是适合本实验使用的。

2.6.2 envi-C₁₈膜空白 envi-C₁₈膜在使用前须用 5 mL $v(\text{乙酸乙酯}):v(\text{二氯甲烷})=1:1$ 的混合物淋洗萃取膜,收集洗涤液浓缩至 1.0 mL 进样,用于检查膜上是否有可被洗脱且干扰测定的杂质。

2.6.3 现场试剂空白 样品在运输和贮藏过程中可能会受到污染。在采样、加固定剂和运输的全过程中携带纯水作为现场试剂空白来检查此类污染。

2.6.4 全程序空白 用处理过的纯水代替水样分析,考察水样全程序分析水样的污染情况。

2.6.5 分析过程中的质控

(1) 内标及标记物的定量离子积分面积在一段时间内要保持相对稳定,内标的漂移不得大于 50%,实验室加标样的积分面积也应相对稳定。

(2) 一个班次内,每批样品做一个实验室试剂空白。

(3) 一个班次内,每批样品做一个实验室加标空白,计算准确度,并检查是否达到方法检出限,在继续分析其他样品前,将以上计算结果补充到控制图中。

(4) 一组现场样品应分析一个现场试剂空白。

(5) 每天分析样品时,均需做连续校正,以评价色谱系统是否正常。

(6) 至少每三个月,做一个加标空白平行样,以检定实验室测量精度,将测定经过补充到控制图中。

(7) 至少每三个月,分析一个外部质控样,结果须达到相应的准确度。

(8) 高、低浓度的样品交替分析时会产生残留性污染。为避免此类污染,在分析特别高浓度的样品后要分析一个实验室试剂空白(LRB)。

2.7 样品的测试

用本方法对河水水样进行多个点位测定,并进行加标回收及平行样试验,平行样的相对标准偏差及加标回收率结果符合要求。相对标准偏差小于 15%,加标回收率在 70%~130%之间。

3 结 论

圆盘萃取、气质联用仪及选择离子法(SIM)法可有效提高仪器灵敏度、降低背景干扰、降低方法测定检出限,检出限达到 pg/mL 级(10^{-12})水平。此方法应用于水样分析,相对标准偏差小于 15%,加标回收率在 75%~125%之间,分析结果的精密度和回收率良好,结果满意。同时本方法应用实际水样检测,结果满意,满足水体中有机氯农药分析的要求。

参考文献:

- [1] 水和废水监测分析方法编委会. 水和废水监测分析方法(第四版)[M]. 北京:中国环境科学出版社,2002:570.
- [2] 美国环保机构编著. Method525. 2. 美国:美国环保机构.
- [3] 孔垂华,徐效华. 有机物的分离和结构鉴定[M]. 北京:化学工业出版社,2003:89.