

原位衍生分析土壤中多种酸性有机农药残留

张莉, 桂建业, 张辰凌, 张永涛, 李晓亚

(中国地质科学院, 水文地质环境地质研究所监测中心, 河北 正定 050803)

摘要:为克服土壤中酸性有机农药测定的预处理过程复杂、回收率低和二次污染严重等不足,建立了土壤中酸性有机农药原位衍生分析方法。将土壤样品、 $\text{Na}_4\text{-EDTA}$ 和水混合均匀,待水分挥发后将样品转移至衍生瓶中,以五氟苄基溴为衍生试剂进行原位超声衍生;萃取液经净化后,采用负化学电离源(NCI)选择离子监测模式测定;同时讨论了络合萃取条件、衍生条件、净化条件、负化学源质谱条件及土壤 TOC 对样品分析的影响。结果表明:该方法在 $5\sim 500\ \mu\text{g/L}$ 线性范围内,各组分响应峰面积与其相应浓度的线性相关系数 r^2 大于 0.998 0;空白基质中不同浓度的加标回收率在 $80\%\sim 110\%$ 之间($n=7$),相对标准偏差在 $8.2\%\sim 13\%$ 之间($n=7$)。应用该方法对不同地域的实际土壤样品进行分析检测,检出了多数酸性有机农药。

关键词:络合反应;土壤原位超声衍生;酸性有机农药;气相色谱-负化学源质谱

中图分类号: O657.63

文献标志码: A

文章编号: 1004-2997(2015)02-0135-06

doi: 10.7538/zpxb.youxian.2014.0065

In Situ Derivatization Analysis of Acidic Organic Pesticide Residues in Soil

ZHANG Li, GUI Jian-ye, ZHANG Chen-ling, ZHANG Yong-tao, LI Xiao-ya

(*Institute of Hydrogeology and Environmental Geology,*

Chinese Academy of Geological Sciences, Zhengding 050803, China)

Abstract: In order to overcome the defect of the pretreatment process of acidic organic pesticides for soil samples, such as complicated, low recovery and large secondary pollution and so on, in situ derivative method for acidic organic pesticide residues in soil was established. The soil sample, $\text{Na}_4\text{-EDTA}$ and pure water were mixed sufficiently, and then transferred the sample into a derivative bottle after the water evaporated, used 2,3,4,5,6-pentafluoro-benzyl bromide as derivative reagents for in situ ultrasonic derivatization. The proposed compounds were separated and analyzed by gas chromatography-negative chemical ionization mass spectrometry(NCI) after the extract was purified. A series of factors affected sample analysis, such as complexation extraction condition, derivatization condition, purification condition, negative chemical ionization mass spectrometry condition and soil TOC, were all well studied and carefully optimized. The results show that the linearity range is $5\sim 500\ \mu\text{g/L}$ with the correlation coefficients grea-

收稿日期:2014-04-14;修回日期:2014-05-26

基金项目:国家自然科学基金(41102151)资助

作者简介:张莉(1965—),女(汉族),河北人,高级工程师,从事有机分析研究。E-mail: zhangli202004@126.com

网络出版时间:2014-12-02;网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/doi/10.7538/zpxb.youxian.2014.0065.html>

ter than 0.998 0. The spiked recoveries of different concentrations range from 80% to 110% with the relative standard deviations of 8.2%-13% ($n=7$). Real sample is analyzed by this method, and some of proposed acidic organic pesticides are detected in some soils.

Key words: complexation; in situ derivatization/extraction; acidic organic pesticides; gas chromatography-negative chemical ionization mass spectrometry

酸性有机农药是化学合成农药中的一大类,在农林生产中发挥着重要的作用,如酸性除草剂、酸性杀虫剂及酸性灭菌剂的广泛使用极大地促进了社会生产,但因其对土壤氮循环的破坏性、水中的易溶解性和对人体的强危害性,使其成为生态环境各个环节中被监控的主要对象。由于此类化合物含有羟基或羧基官能团,对其分析检测的难度较大,尽管采用气相色谱法和液相色谱法都有较低的检出限,但气相色谱-质谱法是鉴定此类化合物更合适的选择,这就需要对该类化合物进行衍生化处理。国内外研究者对水、土壤或固体样品中酸性有机农药的衍生做了大量的分析研究工作^[1-8],并取得了较好的效果,但仍存在预处理过程冗长、次生污染大等弊端。原位衍生法是将化合物的萃取和衍生同时完成的一种分析技术,它可有效地简化预处理流程,提高分析效率。但直接衍生法的衍生效率往往较低,尤其对于土壤或固体样品,这除了样品基质干扰较大和大体积萃取溶剂中(索氏提取、机械振荡萃取等)衍生反应难以控制等因素外,缺少推动衍生反应的外力作用是最根本的原因,而单一的注入物理作用力(温度、压力、机械作用等)不能使这一情况发生根本性的改变。

本研究拟以 $\text{Na}_4\text{-EDTA}$ 为络合剂、五氟苄基溴为衍生试剂,借助超声技术对土壤中酸性有机农药进行原位衍生分析^[8-10],并对络合条件、衍生条件等各种前处理条件进行优化,以期应用于土壤酸性有机农药的实际检测工作。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

GC/MS QP2010 气相色谱-质谱联用仪、氮吹仪、TOC-V_{CPA} 总有机碳分析仪:日本岛津公司产品;KQ-700DV 数控超声波清洗器:昆山市超声仪器有限公司产品;10 mL 刻度衍生

瓶:美国 Supelco 公司产品;硅胶柱:美国 Varian 公司产品。

丙酮、正己烷、甲苯:美国 Tedia 公司产品;99.5%五氟苄基溴(PFBB_r):美国 Supelco 公司产品; $\text{Na}_2\text{-EDTA}$ 、 $\text{Na}_4\text{-EDTA}$ 、碳酸钾、石英砂:上海国药产品。

茅草枯、2,4,6-三氯苯酚、3,5-二氯苯甲酸、麦草畏、2甲4氯、2,4-滴丙酸、2,4-滴、五氯酚等酸性有机农药:德国 Dr. Ehrenstorfer 公司产品;酸性有机农药标准溶液的配制均以丙酮为溶剂。

1.2 实验条件

1.2.1 色谱条件 HP-5MS 色谱柱(30 m×0.25 mm×0.25 μm);升温程序:初始温度 90 °C,以 30 °C/min 升至 200 °C,再以 10 °C/min 升至 300 °C,保持 2 min;进样口温度 230 °C;不分流进样;进样体积 1 μL。

1.2.2 质谱条件 负化学离子源,反应气为甲烷,电离能量 70 eV,离子源温度 200 °C,连接杆温度 220 °C。

1.2.3 超声萃取条件 萃取溶剂为丙酮,萃取温度 60 °C,萃取时间 40 min,萃取功率 490 W,萃取次数为 1 次。

1.3 样品预处理

称取 4.0 g(80 目)自然风干的土壤样品、2 g 石英砂和 0.2 g $\text{Na}_4\text{-EDTA}$ 于研钵中,加入 0.8 mL 纯水,搅拌均匀。常温放置约 36 h 后,将其转移至衍生瓶中,加入 4 mL 丙酮、200 μL 30%五氟苄基溴溶液、100 μL 20% K_2CO_3 溶液,加盖密封,按 1.2.3 节条件衍生萃取。萃取液用离心机离心后,取 1.0 mL 上层萃取液于浓缩瓶中,氮吹至近干,再用约 2 mL 正己烷将其溶解,并转移至硅胶柱上;然后用 2 mL 正己烷-甲苯溶液(9:1, V/V)淋洗硅胶柱,弃去此部分洗脱液,再用 8 mL 正己烷-甲苯溶液(1:9, V/V)洗脱硅胶柱,并将洗脱液收集于定量瓶

中;将洗脱液氮吹至近干,并用丙酮定容至 1 mL,待气相色谱-质谱分析。

2 结果与讨论

2.1 络合条件

在相同条件下,直接对土壤中酸性有机物衍生时,衍生效率较低;当加入络合剂 $\text{Na}_4\text{-EDTA}$ 或 $\text{Na}_2\text{-EDTA}$ 后,衍生效率显著提高。分析认为,这是络合剂对金属离子的络合使有机酸得以释放,从而使萃取衍生效率提高^[8],其络合程度决定着衍生效果。络合程度与水的加入量、样品分散度、反应时间等有密切关系。水的加入量太少,络合剂不能完全

溶解,有机酸释放效果差;水的加入量太大,其水分挥发需要较长的过程;这两种情况都会影响后续衍生反应的顺利进行。石英砂对土壤起分散作用,有利于络合剂与土壤颗粒的充分接触和溶剂对样品的萃取。将 4.0 g 土壤、2 g 石英砂、0.2 g $\text{Na}_4\text{-EDTA}$ 或 $\text{Na}_2\text{-EDTA}$ 及 0.8 mL 纯水充分混合后,在室温下放置约 36 h,络合反应充分。在相同的衍生条件下,将 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 加标的土壤样品采用 5 种方式处理,酸性有机农药的回收率列于表 1。结果表明,2 种络合剂在适量水的作用下具有基本相同的络合效果,因此选择溶解度较大、溶解速度较快的 $\text{Na}_4\text{-EDTA}$ 为络合剂。

表 1 相同衍生条件下的络合效果对比

Table 1 Complexation effect contrast under the same derivative conditions

化合物	回收率/%				
	土样	土样与 0.5 mL 水, $\text{Na}_2\text{-EDTA}$ 混合	土样与 0.5 mL 水, $\text{Na}_4\text{-EDTA}$ 混合	土样与 0.8 mL 水, $\text{Na}_2\text{-EDTA}$ 混合	土样与 0.8 mL 水, $\text{Na}_4\text{-EDTA}$ 混合
茅草枯	13.3	37.9	64.1	103.7	107.8
2,4,6-三氯苯酚	15.2	32.3	57.1	78.6	80.4
3,5-二氯苯甲酸	13.5	40.3	62.3	95.8	92.1
麦草畏	18.1	37.1	54.1	91.7	92.6
2 甲 4 氯	12.2	43.2	63.6	106.4	99.2
2,4-滴丙酸	16.4	32.1	66.7	102.6	105.7
2,4-滴	13.1	41.5	63.9	98.1	93.5
五氯酚	17.7	50.6	63.4	99.4	103.7

2.2 衍生条件

把经过络合反应的 4 g 土壤样品转移至衍生瓶中,当加入 4 mL 萃取溶剂时,能够将土壤全部浸没,衍生反应完成后,经过离心,定量地取出 1 mL 萃取液完成后续的净化分析。

本实验是在土壤原位上对酸性有机农药进行衍生,其衍生程度与衍生试剂的加入量有较大关系。参考 US EPA 8151A 并经验证分析,加入 200 μL 30% 五氟苄基溴和 100 μL 30% K_2CO_3 时,各化合物的衍生较为完全。由于采用定量取出溶剂进行检测的方式,所设定的温度以在衍生过程中不影响丙酮体积为原则,经验证,60 $^{\circ}\text{C}$ 时较为适宜。在 60 $^{\circ}\text{C}$ 下,在 10~40 min 衍生时间内,衍生效率逐渐增大,并且丙酮体积基本不变,在 40 min 时,化合物的衍生效率达到最大值。

衍生时间与衍生效率的关系示于图 1。较大的超声功率会造成萃取液基质变大,对其净化造成困难,实验所确定的超声功率为 490 W。

由于酸性有机物与五氟苄基溴之间的反应是特定官能团之间的反应(羟基或羧基与五氟苄基之间的反应),因此其他种类的有机物不消耗衍生试剂,不会对衍生反应造成影响。按照上述所优化的条件进行分析检测,化合物的回收率在 80%~110% 之间。

2.3 净化条件

$\text{Na}_4\text{-EDTA}$ 起到络合作用的同时,还具有脱色作用。按照本方法分析,萃取液色度明显降低。过量的五氟苄基溴会严重干扰负化学源的测定,以浓缩换相的方式使其挥发是最简单有效的净化方法,此过程的完成为后续的硅胶

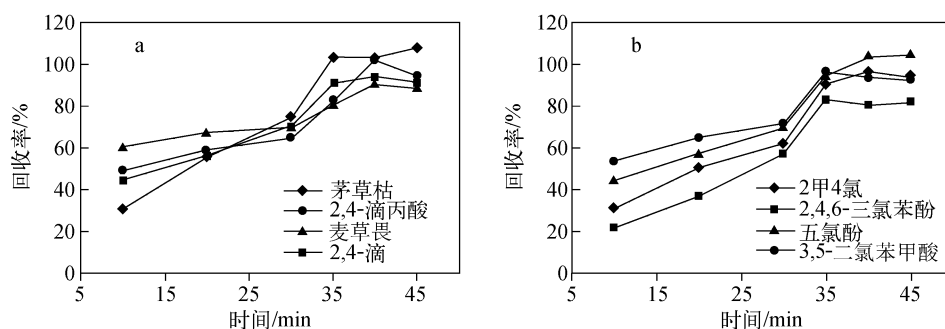


图1 衍生时间与衍生效率的关系图

Fig. 1 The relationship of derivatization time vs derivatization efficiency

柱净化提供了方便。由于衍生产物仍具有一定的极性,因此以极性较低的正己烷-甲苯溶液(9:1, V/V)洗脱样品中的弱极性杂质,淋洗体积为2 mL,超过此体积化合物会有损失,其中2,4,6-三氯苯酚的损失严重。相应的,洗脱溶剂的极性有所增大,用8 mL 正己烷-甲苯溶液(1:9, V/V)洗脱,回收率可达80%以上。在检测过程中,负化学源自身也表现出对萃取液的“净化”作用,其对含氟衍生物的高选择性降低了色谱背景值,使信噪比增强。

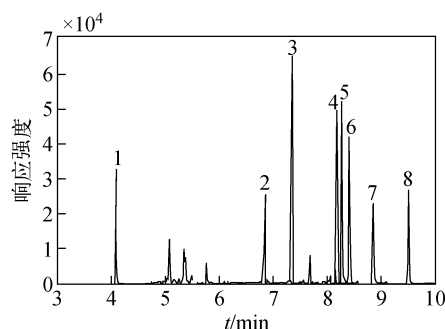
2.4 总有机碳(TOC)对回收率的影响

采用总有机碳分析仪(TOC-V_{CPA})对土壤总有机碳(TOC)进行测定。分析不同 TOC 的土壤加标样品时发现:当 TOC 小于3%时,土壤基质基本不影响分析测定,回收率在80%以上;当 TOC 在3%~4%时,正己烷-甲苯溶液(9:1, V/V)的体积加大到4 mL左右才能有较好的净化效果,深度净化造成了部分化合物的回收率降低,受净化影响较大的是2,4,6-三氯苯酚,其回收率在65%左右;该方法不适用 TOC 大于4%样品(受有机成分重度污染或含有大量腐殖质的样品)的测定。一般情况下,农、林、牧的土壤 TOC 小于3%,因此该方法的适用范围较广。

2.5 负化学源定性定量参数

酸性有机农药经五氟苄基溴衍生后,引入高电负性的氟元素,负化学源对此类化合物具有高选择性,而对其他种类化合物基本不响应^[10],因此色谱背景值较低。选择离子监测模式下的色谱分离效果图示于图2,将衍生物在软电离条件下产生丰度最大的离子碎片确定为定量离子,其质谱图示于图3,各组分

参数列于表2。



注:1. 茅草枯;2. 2,4,6-三氯苯甲酸;
3. 3,5-二氯苯甲酸;4. 麦草畏;5. 2甲4氯;
6. 2,4-滴丙酸;7. 2,4-滴;8. 五氯酚

图2 色谱分离效果图

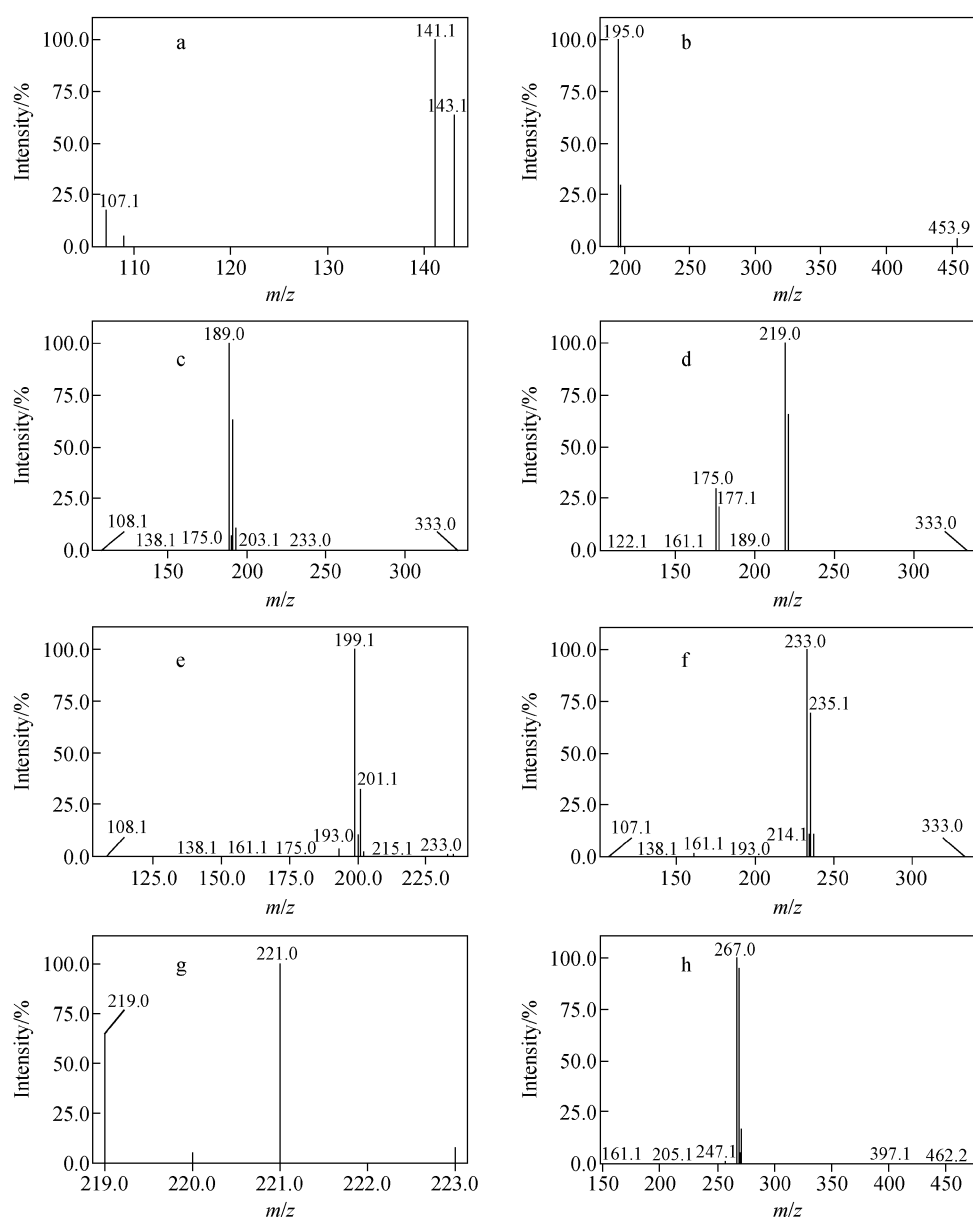
Fig. 2 Chromatography of eight objects

2.6 方法验证

制备一定浓度范围的标准溶液,按1.4节条件衍生后用气相色谱-质谱检测,化合物的相关系数(r^2)大于0.9980。采用逐渐降低浓度添加水平的方法在丙酮溶剂中进行加标实验,各化合物的检出限(LOD, S/N>3)在1.3~4.2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 之间、定量限(LOQ, S/N>10)在4.1~15.8 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 之间。在空白样品中,对每种化合物设定50、100、300 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 3个浓度水平的加标实验($n=7$),得到各化合物的回收率在80%~110%之间,相对标准偏差在8.2%~13%之间。

2.7 样品分析

对不同地域的土壤进行分析,部分样品(S1~S8)的检测结果列于表3。在这些土壤样品中,检出了大多数酸性有机农药,其中2甲4氯的检出率和检出量较高。



a. 茅草枯; b. 2,4,6-三氯苯酚; c. 3,5-二氯苯甲酸; d. 麦草畏; e. 2甲4氯; f. 2,4-滴丙酸; g. 2,4-滴; h. 五氯酚

图3 8种酸性有机农药的质谱图

Fig. 3 Mass spectrogram of 8 acid organic pesticide

表2 衍生产物的主要定性、定量参数

Table 2 Main qualitative and quantitative parameters of the derivatization products

化合物	保留时间/min	定量离子(m/z)	参考离子(m/z)	线性范围/($\mu\text{g/L}$)	相关系数 r^2
茅草枯	4.080	141	143, 107, 109	20~500	0.999 6
2,4,6-三氯苯酚	6.835	195	197	10~500	0.998 1
3,5-二氯苯甲酸	7.320	189	191, 193, 190	5~500	0.998 3
麦草畏	8.143	219	221, 175, 177	5~500	0.998 9
2甲4氯	8.230	199	201, 200, 202	5~500	0.999 4
2,4-滴丙酸	8.385	233	235, 237, 234	5~500	0.998 6
2,4-滴	8.819	221	219, 223, 220	5~500	0.998 8
五氯酚	9.498	267	269, 265, 263	5~500	0.999 0

表 3 实际土壤样品的检测结果
Table 3 The analysis results of real soil samples

化合物	实际样品/($\mu\text{g}/\text{kg}$)							
	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8
茅草枯	—	46.8	—	—	—	—	—	—
2,4,6-三氯苯酚	—	—	—	—	—	—	12.9	—
3,5-二氯苯甲酸	—	—	—	11.2	—	—	—	—
麦草畏	—	—	—	—	—	23.1	—	—
2 甲 4 氯	29.1	—	15.7	18.2	86.3	62.4	—	—
2,4-滴丙酸	—	—	—	—	10.6	—	—	—
2,4-滴	—	—	—	—	—	—	—	—
五氯酚	—	—	—	—	—	—	—	9.8

3 结论

通过对络合条件、衍生条件、净化条件及负化学源质谱条件的优化,建立了分析流程简单、低污染、高准确度和高灵敏度的原位衍生分析方法,弥补了现有方法的不足。按本方法分析,各化合物的回收率大于 80%,相对标准偏差低于 13%。空白土壤加标分析和实际样品分析结果证明了该方法的可行性和重要性,对土壤环境的监测、评价和治理有着积极意义,也可为其他固体样品中相关酸性有机物的分析提供借鉴。

参考文献:

- [1] 赵守成,董振森,卫峰,等. 甲基化处理气相色谱-质谱同时检测大米中 12 中酸性除草剂[J]. 质谱学报,2005,26(4):206-210.
ZHAO Shoucheng, DONG Zhensen, WEI Feng, et al. Simultaneous determination of twelve acid herbicides in rice by gas chromatography-mass spectrometry[J]. Journal of Chinese Mass Spectrometry Society, 2005, 26(4): 206-210(in Chinese).
- [2] 匡华,侯玉霞,储晓刚,等. 气相色谱-质谱法同时测定大豆中 14 种苯氧羧酸类除草剂[J]. 分析化学,2006,34(12):1 733-1 736.
KUANG Hua, HOU Yuxia, CHU Xiaogang, et al. Simultaneous determination of phenoxyacid herbicides in soybean by gas chromatography-mass spectrometry[J]. Chinese Journal of Analytical Chemistry, 2006, 34(12): 1 733-1 736(in Chinese).
- [3] 苏允兰,莫汉宏,安凤春,等. 土壤中结合态苯氧羧酸类除草剂的测定[J]. 环境化学,2001,20(6):577-581.
SU Yunlan, MO Hanhong, AN Fengchun, et al. The determination of bound residues of chlorophenoxy acetic herbicides in soils[J]. Environmental Chemistry, 2001, 20(6): 577-581(in Chinese).
- [4] 颜鸿飞,黄志强,张莹,等. 气相色谱-质谱法测定茶叶中 29 中酸性除草剂[J]. 色谱,2009,29(3): 288-293.
YAN Hongfei, HUANG Zhiqiang, ZHANG Ying, et al. Determination of 29 acidic herbicide residues in tea by gas chromatography-mass spectrometry[J]. Chinese Journal of Chromatography, 2009, 29(3): 288-293(in Chinese).
- [5] U. S. EPA Method 8151A, National technical information service[S]. Washington DC, 1996.
- [6] DING W S, LIU C H, YEH S P. Analysis of chlorophenoxy acid herbicides in water by large-volume on-line derivatization and gas chromatography-mass spectrometry[J]. Journal of Chromatography A, 2000, 896: 111-116.
- [7] VINK M, van der Poll J M. Gas chromatographic determination of acid herbicides in surface water samples with electron-capture detection and mass spectrometric confirmation[J]. Journal of Chromatography A, 1996, 733: 361-366.
- [8] CAMPBELL S, LI Q X. Na_4EDTA -assisted in situ derivatization pressurized fluid extraction of polar herbicides in soil[J]. Analytica Chimica Acta, 2001, 434: 283-289.
- [9] U. S. EPA Method 3550B, Ultrasonic Extraction [S]. Washington, DC, 1996.
- [10] 张莉,张辰凌,桂建业,等. 固相膜萃取-膜上超声衍生法测定水中酸性有机物[J]. 分析化学, 2013,41(11):1 709-1 181.
ZHANG Li, ZHANG Chenling, GUI Jianye, et al. Determination of acidic organic compounds in water by solid phase membrane extraction-membrane ultrasonic assisted extraction method [J]. Chinese Journal of Analytical Chemistry, 2013, 41(11): 1 709-1 181(in Chinese).