

同位素稀释-气相色谱-串联质谱法测定土壤中的指示性毒杀芬

张 兵 , 吴嘉嘉 , 刘国瑞 , 高丽荣 , 郑明辉*

(中国科学院生态环境研究中心,北京 100085)

摘要 :建立了土壤样品中指示性毒杀芬 Parlar No. 26 (P26)、Parlar No. 50 (P50)和 Parlar No. 62 (P62)的同位素稀释-气相色谱-串联质谱(ID-GC-MS/MS)的分析方法。土壤样品使用压力溶剂萃取装置(PLE)提取,以丙酮-正己烷(1:1, v/v)混合溶液为提取溶剂,提取液依次经由多层酸性硅胶柱和活化硅胶柱净化,洗脱液经氮吹浓缩至 20 μ L 后,利用 GC-MS/MS 的多反应监测(MRM)模式进行定性和定量。结果表明本方法可对样品中的 P26、P50 和 P62 进行分析,相对标准偏差(RSD)小于 11%,回收率可以达到 55% ~ 110%,P26、P50 和 P62 的仪器检出限分别为 3.0、3.0 和 6.0 μ g。将该方法用于某地区农田表层土壤中 3 种指示性毒杀芬的检测,其中 P26 的含量为 0.17 ng/g、P50 为 0.08 ng/g、P62 为 0.09 ng/g。此方法适用于土壤样品中指示性毒杀芬的分析。

关键词 :同位素稀释法 ;气相色谱 ;串联质谱 ;指示性毒杀芬 ;土壤

中图分类号 :O658 文献标识码 :A 文章编号 :1000-8713(2010)05-0456-04

Determination of indicator toxaphene in soil by isotope dilution-gas chromatography-tandem mass spectrometry

ZHANG Bing , WU Jiajia , LIU Guorui , GAO Lirong , ZHENG Minghui*

(Research Center for Eco-Environmental Sciences , Chinese Academy of Sciences , Beijing 100085 , China)

Abstract : Although toxaphene is now banned in use , the analysis of toxaphene has attracted increasing interest due to its persistence and widespread atmospheric transport in the environment. A new method based on isotope dilution-gas chromatography-tandem mass spectrometry (ID-GC-MS/MS) has been developed for the determination of three toxaphene specific congeners comprised of Parlar No. 26 (P26) , Parlar No. 50 (P50) and Parlar No. 62 (P62) in soil. $^{13}\text{C}_{10}$ -labeled indicator toxaphene solution was added to the sample prior to pretreatment. Then the sample was extracted using pressurized liquid extraction (PLE) followed by purification on multilayer acidic silica column and neutral silica column. The eluent was concentrated under gentle nitrogen gas flow and spiked with the injection of internal standard of $^{13}\text{C}_{10}$ -chlordane. Identification and quantification of the analytes were carried out in the multiple reaction monitoring (MRM) mode after the GC separation. The linear range was 20 – 800 μ g/L for three congeners , limits of detection (LOD) ranged from 3.0 to 6.0 μ g. The five point calibration curves showed a good linearity for all the congeners ($R^2 > 0.99$). The relative standard deviations (RSDs) were below 11% for and the spiked recoveries were in the range of 55% – 110%. The developed analytical method is suitable for the determination of toxaphene specific congeners in soil.

Key words : isotope dilution ; gas chromatography (GC) ; tandem mass spectrometry (MS/MS) ; indicator toxaphene ; soil

毒杀芬是一种广谱性杀虫剂,由 5 ~ 10 个氯取代的苧烯或苧烷组成,根据其结构式理论推断,它的同类物的数量多达 32 768 种^[1]。在 20 世纪 70 年

代,毒杀芬被用作滴滴涕(DDT)的替代品,为了保护农作物、家禽和家畜免受害虫和病毒侵害,曾经在世界范围内被广泛使用^[2]。由于它具有较高的毒

* 通讯联系人 :郑明辉,博士,研究员。Tel : (010) 62849172 , E-mail : zhengmh@rcees.ac.cn.

基金项目 :中国科学院知识创新工程重要方向项目(No. KZCX2-YW-JS406)和环保公益性行业科研专项项目(No. 200909096)。

收稿日期 :2010-01-14

性、持久性和生物富集性,所以可在大气中进行远距离传输^[3],在远离使用地点的海洋哺乳动物体内、鱼类甚至是人乳中都检测到了不同浓度的毒杀芬^[4-6],毒杀芬已被列为《斯德哥尔摩公约》中首批控制的12种持久性有机污染物(persistent organic pollutants, POPs)之一。虽然毒杀芬同类物数量众多,但有研究^[7]证明只有七氯~九氯的同系物会在脂肪中高富集,据文献报道,动物脂肪中的 Parlar No. 26(P26)、Parlar No. 50(P50)和 Parlar No. 62(P62)3种毒杀芬^[8]的含量大约占总量的8%~50%,因此通常将这3种毒杀芬同类物作为指示性毒杀芬加以研究。毒杀芬与其他 POPs 性质相似,它的 $\log K_{oc}$ 为 2.5~6,会被土壤颗粒物吸附,土壤中的毒杀芬还可能污染地下水^[9],所以毒杀芬被认为是最受关注的有机氯农药^[10]。

环境中的毒杀芬残留量较低,因此需要高选择性、高灵敏度的检测方法。由于电子捕获检测器(ECD)对于含氯的有机物具有较高的灵敏度,因此安装 ECD 的气相色谱仪曾被广泛应用于环境介质中残留毒杀芬的定性和定量分析^[11,12]。但由于 ECD 对目标化合物选择性不强,近年来在环境样品中毒杀芬的检测多采用气相色谱-质谱联用(GC-MS)方法。de Boer 等^[13]利用负化学电离源 GC-MS 技术在鱼和海洋哺乳动物等生物样品中检测到了不同浓度水平的毒杀芬。由于毒杀芬同类物数量众多,并且基质或其他相似物质可能会对目标化合物的测定产生严重干扰,易产生假阳性结果,因此需要更准确的分析方法。同位素稀释法(ID)被认为是环境介质中 POPs 定性和定量最准确的方法^[14],目前在二恶英类和多氯联苯的分析方法中已得到广泛应用。2009年8月美国CIL公司推出¹³C₁₀标记P26、P50和P62指示性毒杀芬标准品,为采用ID法进行毒杀芬检测提供了可能。基于GC-MS/MS技术检测毒杀芬的最新进展^[8],我们建立了ID-GC-MS/MS法检测土壤中指示性毒杀芬的分析方法。采用压力溶剂萃取(PLE)技术^[15]对样品中的毒杀芬进行提取,利用多层酸性硅胶柱对样品进行净化,用活化硅胶柱消除样品中多氯联苯和其他有机氯农药的干扰,并对3种指示性毒杀芬同类物分析过程中的各项指标,如回收率、空白、基质加标和平行样等质量保证和质量控制的措施进行研究。

1 实验部分

1.1 仪器、试剂与材料

7000A型三重四极杆串联质谱仪(美国Agilent

公司);压力溶剂提取仪(美国FMS公司);氮吹浓缩仪(美国Organomation Associates Inc.);旋转蒸发仪(瑞士BüCHI公司);冷冻干燥机(北京松源华兴科技公司)。

¹³C₁₀-氯丹、¹³C₁₀标记和非标记的P26、P50和P62标准物质(纯度99%,美国CIL公司);实验所用溶剂甲醇、丙酮、二氯甲烷、正己烷及甲苯均为农残级(美国J. T. Baker公司);硫酸(优级纯,北京北化精细化学品公司)。硅胶(100~200目,山东青岛海洋化工厂分厂)经甲醇和二氯甲烷柱淋洗后氮气吹干。硅胶使用前12h于180℃活化6h后,置于干燥器中待用;22%酸性硅胶:取活化后的硅胶78g,逐滴加入浓硫酸22g,边加边振荡,使其分散均匀。将制备好的酸性硅胶放入试剂瓶中密封,保存在干燥器中;44%酸性硅胶:取活化后的硅胶78g,逐滴加入浓硫酸44g,边加边振荡,使其分散均匀。将制备好的酸性硅胶放入试剂瓶中密封,保存在干燥器中;无水硫酸钠:优级纯,使用前于马弗炉中660℃灼烧8h。

1.2 样品前处理

1.2.1 压力溶剂提取

将土壤样品冷冻干燥后,研磨,取20.0g加入10.0μg/L的¹³C₁₀标记P26、P50和P62标准品的丙酮溶液,并与适量硅藻土混匀后转移至100mL提取筒中,将提取筒静置30min后放入PLE提取筒的加热套内,以丙酮-正己烷(1:1, v/v)混合溶液为提取溶剂。提取温度:100℃;系统压力:15MPa;加热时间:15min;氮吹时间:30s。循环2次。

1.2.2 多层酸性硅胶柱净化

将PLE提取液在旋转蒸发仪上浓缩至约2mL,并转移至多层酸性硅胶柱上(200mm×10mm,干法装柱,从上到下依次为5.0g无水硫酸钠、2.5g活化硅胶、10.0g22%酸性硅胶和12.5g44%酸性硅胶),用100mL正己烷淋洗多层酸性柱,收集洗脱液,浓缩至2mL,准备过活化硅胶柱。

1.2.3 活化硅胶柱净化

将多层酸性硅胶柱淋洗浓缩液转移至活化硅胶柱上(200mm×10mm,干法装柱,从上到下依次为5.0g无水Na₂SO₄和8.0g活化硅胶),用45mL正己烷淋洗,去除多氯联苯及其他有机氯农药的干扰,再用50mL甲苯-正己烷(35:65, v/v)溶液淋洗,收集洗脱液,氮吹浓缩至约20μL,然后加入10ng的¹³C₁₀-氯丹作为进样内标。

1.3 色谱条件

采用DB-5MS色谱柱(30m×0.25mm×0.25

μm)载气:氦气,恒流模式,流速 1 mL/min;脉冲不分流进样 1 μL 。进样口温度:230 $^{\circ}\text{C}$;传输线温度:290 $^{\circ}\text{C}$;程序升温:80 $^{\circ}\text{C}$ 保持 2 min,以 20 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 速率升至 200 $^{\circ}\text{C}$,5 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升至 250 $^{\circ}\text{C}$ 保持 7 min,再以 10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 的速率升至 300 $^{\circ}\text{C}$ 。

1.4 质谱条件

电子轰击源(EI),电子能量 50 eV,源温度 230 $^{\circ}\text{C}$ 双四极杆温度 150 $^{\circ}\text{C}$ 碰撞气:He 2.25 mL/min、 N_2 1.5 mL/min。采用多反应监测(MRM)方式进行数据采集,毒杀芬同类物的监测离子(m/z)及碰撞电压(CE)如表 1 所示。

表 1 MRM 模式下指示性毒杀芬的监测离子及碰撞电压(CE)

Table 1 Compounds monitored mass and collision energy (CE), using electronic ionization

Compound	Precursor ion (m/z)	Product ion (m/z)		CE/eV
		Quantitative ion	Qualitative ion	
P26	195	195.1	159.1	5
P50	195	195.1	159.1	5
P62	195	195.1	159.1	5
$^{13}\text{C}_{10}$ -P26	166	166.1	130.1	15
$^{13}\text{C}_{10}$ -P50	166	166.1	130.1	15
$^{13}\text{C}_{10}$ -P62	166	166.1	130.1	15
$^{13}\text{C}_{10}$ -Chlordane	385	276.0	242.0	30

1.5 质量保证与质量控制

PLE 提取筒和玻璃器皿使用之前分别用丙酮、甲醇和二氯甲烷超声清洗干净,去除背景有机杂质,每个样品中均加入 $^{13}\text{C}_{10}$ 同位素标记的 P26、P50、P62 和氯丹,以评价分析方法的回收率。

2 结果与讨论

2.1 校正曲线

根据文献报道的环境背景值样品中毒杀芬的含量范围,本实验确定并配制了 3 种指示性毒杀芬的标准溶液,其中同位素标记内标物 $^{13}\text{C}_{10}$ -P26、 $^{13}\text{C}_{10}$ -P50 及 $^{13}\text{C}_{10}$ -P62 的质量浓度为 200 $\mu\text{g}/\text{L}$,进样内标 $^{13}\text{C}_{10}$ 标记的氯丹的质量浓度为 200 $\mu\text{g}/\text{L}$,工作曲线中 P26、P50 及 P62 的质量浓度范围为 20 ~ 800 $\mu\text{g}/\text{L}$ 。经计算,各标记化合物和非标记化合物之间的相对响应值(RR)的相对标准偏差(RSD)在 4% ~ 15% 之间,5 点校正曲线具有良好的线性。

2.2 精密度和回收率

称取 3 份 20.0 g 石英砂与适量的硅藻土均匀混合,分别加入质量浓度为 400 $\mu\text{g}/\text{L}$ 的 P26、P50 及 P62 的标准溶液和质量浓度为 200 $\mu\text{g}/\text{L}$ 的 $^{13}\text{C}_{10}$ -P26、 $^{13}\text{C}_{10}$ -P50 及 $^{13}\text{C}_{10}$ -P62 内标物,按 1.2 节所述的

前处理方法,对加标的基质样品进行提取净化。分析结果表明,P26、P50 和 P62 的质量浓度依次为(400 \pm 6.2)、(400 \pm 10.3)和(400 \pm 20.4) $\mu\text{g}/\text{L}$,同位素标记物的回收率为 55% ~ 110%,RSD 为 3.2% ~ 10.1%。

2.3 空白试验

空白试验结果表明,样品提取时加入 $^{13}\text{C}_{10}$ -P26、 $^{13}\text{C}_{10}$ -P50 和 $^{13}\text{C}_{10}$ -P62 的同位素稀释剂溶液,回收率为 65% ~ 115%,空白样品中 P26、P50 及 P62 的含量低于方法检出限,不影响实际样品的定量。

2.4 方法检出限

将标准溶液稀释,进样 1 μL 测试,以毒杀芬同类物的信噪比(S/N)约为 3 平行测定 6 次,计算 P26、P50 和 P62 的绝对检出限分别为 3.0、3.0 和 6.0 pg。

2.5 实际土壤样品的测定

采用 ID 法对某地区农田表层土壤中的指示性毒杀芬进行了分析,实验结果(见图 1)表明,同位素内标 $^{13}\text{C}_{10}$ -P26、 $^{13}\text{C}_{10}$ -P50 及 $^{13}\text{C}_{10}$ -P62 的回收率为 50% ~ 110%。该土壤样品中指示性毒杀芬 P26、P50 和 P60 的含量分别为 0.17、0.08 和 0.09 ng/g。

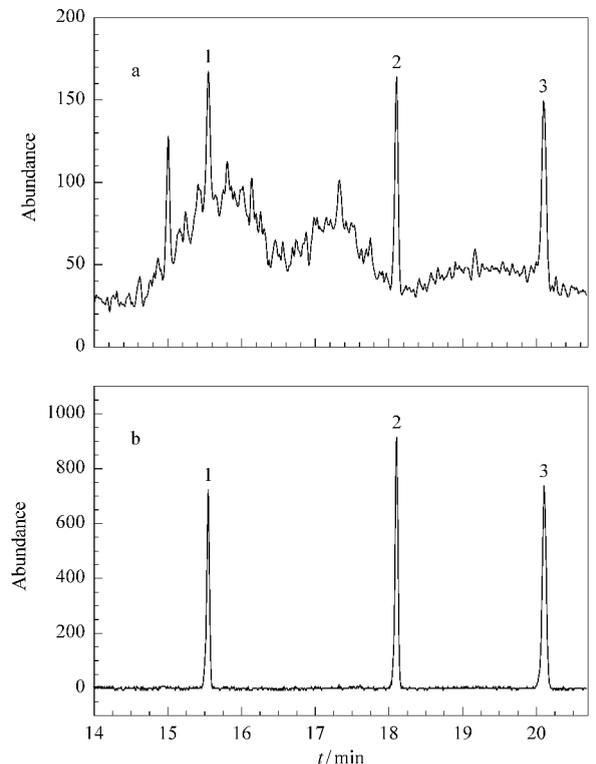


图 1 (a)实际土壤样品和(b)标准溶液中指示性毒杀芬的色谱图

Fig. 1 Chromatograms of P26, P50 and P62 in (a) a soil sample and (b) standard solution

a. 1. P26; 2. P50; 3. P62. b. 1. $^{13}\text{C}_{10}$ -P26; 2. $^{13}\text{C}_{10}$ -P50; 3. $^{13}\text{C}_{10}$ -P62.

3 结语

本研究建立了 ID-GC-MS/MS 检测指示性毒杀芬的分析方法。该方法灵敏,精密度高。对土壤样品的分析验证表明,该方法适用于环境土壤样品中的指示性毒杀芬 P26、P50 和 P62 的分析。

参考文献:

- [1] Vetter W. *Chemosphere*, 1993, 26 : 1079
- [2] Saleh M A. *Rev Environ Contam Toxicol*, 1991, 118 : 1
- [3] Paasivirta J, Sinkkonen S, Nikiforov V, et al. *Environ Sci Pollut Res*, 2009, 16 : 191
- [4] Andersson Ö, Linder C E, Olsson M, et al. *Arch Environ Contam Toxicol*, 1988, 17 : 755
- [5] Alder L, Beck H, Khandker S, et al. *Chemosphere*, 1997, 34 : 1389
- [6] Gouteux B, Lebeuf M, Hammill M O, et al. *Environ Sci Technol*, 2005, 39 : 1448
- [7] Alder L, Vieth B, Fresenius J *Anal Chem*, 1996, 354 : 81
- [8] Veyrand B, Venisseau A, Marchand P, et al. *J Chromatogr B*, 2008, 865 : 121
- [9] Bezchlebová J, Černohlávková J, Lána J, et al. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2007, 68 : 326
- [10] IFCS, Intergovernmental Forum on Chemical Safety. Final Report of the IFCS Ad Hoc Working Group on Persistent Organic Pollutants. [2009-12-19]. <http://www.chem.unep.ch/pops/indxhtmls/manwgrp.html>
- [11] Liu J S, Liu H Y, Zhang H, et al. *Environmental Science and Technology* (刘婕丝,刘红玉,张慧,等.环境科学与技术), 2007, 30(10):90
- [12] Wang M T, Liu Z Y, Mu J, et al. *Dyeing & Finishing* (王明泰,刘志研,牟峻,等.印染), 2006, 6 : 37
- [13] de Boer J, Wester P G. *Chemosphere*, 1993, 27(10):1879
- [14] Jones K C, de Voogt P. *Environ Pollut*, 1999, 100 : 209
- [15] Xie Y L, Rao Z, Wang X H, et al. *Journal of Instrumental Analysis* (谢原利,饶竹,王晓华,等.分析测试学报), 2009, 28(7):804