

文章编号: 1674-5566(2012)01-0067-06

固相萃取-气相色谱法测定沉积物中六氯环己烷、双对氯苯基三氯乙烷的残留量

姜琳琳, 叶 玫, 罗冬莲

(福建省水产研究所, 福建 厦门 361012)

摘 要: 通过对样品前处理方法和气相色谱条件的改进, 建立一套稳定的沉积物中六氯环己烷、双对氯苯基三氯乙烷残留的气相色谱检测方法, 满足实验室批量测定样品的要求。选择 40 mL 正己烷和丙酮混合液($V_{\text{正己烷}}:V_{\text{丙酮}}=1:1$)作为提取液, 并加入 2 g 铜粉去除硫化物, 用 Florisil SPE 小柱和 Carbon-GCB SPE 小柱串联净化, 采用 10 mL 正己烷和丙酮混合液($V_{\text{正己烷}}:V_{\text{丙酮}}=9:1$)进行洗脱, 浓缩后用 DB-1701 气相毛细管柱分离, 用带电子捕获检测器的气相色谱仪(GC-ECD)检测, 外标法定量。本研究选择沙质性质的沉积物作为基准进行加标回收实验, 平均回收率在 74.5%~92.0%, 相对标准偏差在 3.09%~6.67%; 检出限为 α -HCH: 1.96×10^{-4} mg/kg, β -HCH: 1.45×10^{-6} mg/kg, γ -HCH: 1.90×10^{-4} mg/kg, δ -HCH: 1.98×10^{-4} mg/kg, p,p'-DDD: 2.47×10^{-6} mg/kg, o,p'-DDT: 1.08×10^{-4} mg/kg, p,p'-DDE: 1.59×10^{-4} mg/kg, p,p'-DDT: 2.52×10^{-4} mg/kg。采用泥质性质的沉积物对本方法进行验证, 加标回收率和相对标准偏差都符合沉积物样品的药残检测要求。

研究亮点: 采用固相萃取-气相色谱法测定沉积物中六氯环己烷、双对氯苯基三氯乙烷的残留量, 溶剂用量少, 操作步骤简单, 与同类方法相比较, 该方法大大提高实验室批量样品的检测效率。本方法净化效果好, 灵敏度高, 样品加标回收率达到 70% 以上, 相对标准偏差小于 10%, 且重现性好, 符合沉积物样品的药残检测要求。

关键词: 固相萃取; 沉积物; 有机氯农药; 残留; 气相色谱法
中图分类号: S 948; O 657.7
文献标志码: A

有机氯农药 (Organochlorine Pesticides, OCPs) 中的六氯环己烷, 俗名六六六 (HCH)、双对氯苯基三氯乙烷, 俗名滴滴涕 (DDT) 等氯苯类衍生物作为杀虫剂常被广泛使用, 此类农药属于可致癌物质, 能损害神经系统, 引起免疫系统的紊乱, 严重影响着人类和动物的健康。中国在 1983 年禁止生产 DDT 等 OCPs, 但作为其他药物如三氯杀螨醇的中间体污染环境的现象仍然存在。

沉积物是 OCPs 迁移的一种重要的环境介质, 根据海洋沉积物质量标准 (GB 18668—2002)^[1] 中规定海洋沉积物中 HCH 的第一类标准限量值为 0.5 mg/kg, DDT 的限量值为 0.02 mg/kg, 为此准确地测定沉积物中 HCH、DDT 的

残留量对环境评价显得至关重要。目前, 关于测定沉积物中 OCPs 残留量的检测方法很多^[2-6], 但操作步骤较为繁琐, 不适合实验室的批量检测。参照近年来国内外报道的检测方法, 并结合实验室检测数量大、时间紧等实际情况, 针对硫化物、色素、脂类等干扰物的去除以及色谱条件进行了改进, 建立一套稳定的沉积物中 HCH、DDT 的气相色谱检测方法。

1 材料与方 法

1.1 实验材料

1.1.1 仪器

实验仪器有美国 Agilent 公司 6890N 气相色谱仪, 63Ni 微电子捕获检测器, HP-5 毛细管柱

收稿日期: 2011-06-05 修回日期: 2011-10-18

基金项目: 福建省属公益类科研院所基本科研专项(2010R1002-2)

作者简介: 姜琳琳(1981—), 女, 工程师, 硕士, 研究方向为水产品中药残的检测。E-mail: jllhzau@163.com

(30 m × 0.32 mm × 0.25 μm), DB-1701 毛细管柱 (30 m × 0.32 mm × 0.25 μm), AB204-E 电子分析天平(梅特勒-托利多仪器上海有限公司), 超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司), R205 旋转蒸发器(上海申生科学仪器有限公司), YGC-36 氮吹仪(成都雅源科技有限公司), 80-2B 低速离心机(上海安亭科学仪器厂), 固相萃取装置(上海安谱科学仪器有限公司)。

1.1.2 试剂

丙酮、正己烷、石油醚、乙酸乙酯均为色谱纯。无水硫酸钠:在 650 °C 高温炉中烘制 4 h, 冷却至室温后, 收集于广口玻璃瓶中密封贮存备用。实验所用试剂有盐酸溶液($V_{\text{盐酸}}:V_{\text{H}_2\text{O}}=1:1$); 正己烷-丙酮混合液 1($V_{\text{正己烷}}:V_{\text{丙酮}}=1:1$); 正己烷-丙酮混合液 2($V_{\text{正己烷}}:V_{\text{丙酮}}=9:1$)。

铜粉(200 目, 纯度 99.8%):用盐酸浸洗 30 s, 倾去酸, 用水洗至中性, 再用丙酮洗数次, 通入氮气吹干, 保存在充氮的具塞玻璃瓶中备用, 最好当天使用当天制备。

固相萃取小柱: CNWBOND Florisil(弗罗里硅土) SPE 小柱(1 g 和 2 g 两种规格), CNWBOND Carbon-GCB(石墨化碳黑) SPE 小柱(250 mg), 购于上海安谱科学仪器有限公司。

有机氯农药标准物质(标准值): α -HCH(40 μg/mL), β -HCH(100 μg/mL), γ -HCH(60 μg/mL), δ -HCH(60 μg/mL), p, p'-DDD(100 μg/mL), p, p'-DDE(80 μg/mL), p, p'-DDT(150 μg/mL), o, p'-DDT(100 μg/mL), 购于中国标准物质采购中心。根据需要准确移取适量的有机氯标准溶液, 用正己烷稀释成适宜浓度的混合标准工作液。

1.1.3 供试样品

沉积物样品由“漳江口持久性污染物滴滴涕溯源与归宿研究”项目组提供, 采集的样品置于室内阴凉的通风处制成风干样品, 将风干样摊放在聚乙烯板上, 用聚乙烯棒将样品压碎, 剔除砾石和颗粒较大的动植物残骸。风干样用瓷研钵粉碎, 用 80 目金属筛过筛, 将加工后的样品混匀装瓶待用。

1.2 分析测定实验

1.2.1 提取

称取自然风干试样 5 g(精确到 0.01 g) 放于 150 mL 具塞三角瓶中, 加入 40 mL 正己烷-丙酮

混合液 1, 浸泡过夜; 加入 2 g 铜粉于溶液中, 超声波提取 20 min, 不时地摇动三角瓶。向漏斗(塞上少许脱脂棉花)中加入 5 g 无水硫酸钠, 将提取液倒入漏斗并收集于鸡心瓶中, 再用 10 mL 正己烷-丙酮混合液 1 分两次洗涤残渣, 一同转入鸡心瓶, 在 40 °C 水浴中减压蒸干。残渣用 3 mL 混合液 1 溶解, 待净化。

1.2.2 净化

比较 1 g 和 2 g 的 Florisil SPE 小柱的净化效果以及 1 g 的 Florisil SPE 小柱和 Carbon-GCB SPE 小柱串联的净化效果, 用 10 mL 正己烷-丙酮混合液 2 淋洗活化小柱, 弃掉洗涤液。将 3 mL 的 1.2.1 中提取液转入小柱, 比较 3 者的净化效果。

采用 Florisil SPE 小柱和 Carbon-GCB SPE 小柱串联, 分别用 10 mL 正己烷-丙酮混合液 2、石油醚-乙酸乙酯($V_{\text{石油醚}}:V_{\text{乙酸乙酯}}=95:5$)、正己烷预先淋洗活化小柱, 弃掉洗涤液。将 3 mL 有机氯标准溶液转入小柱, 分别用 10 mL 上述 3 种淋洗液进行洗脱, 收集洗脱液, 用氮气吹干, 正己烷定容至 2 mL, 待上机。

采用 Florisil SPE 小柱和 Carbon-GCB SPE 小柱串联, 用 10 mL 正己烷-丙酮混合液 2 淋洗活化小柱, 弃掉洗涤液。将 3 mL 有机氯标准溶液转入小柱, 用正己烷-丙酮混合液 2 洗脱, 洗脱液每毫升收集一次, 用氮气吹干, 正己烷定容至 2 mL, 待上机。

1.2.3 色谱条件

分别采用 DB-5 毛细管柱和 DB-1701 毛细管柱对样品进行分离, 进样量 1 μL, 载气为高纯氮气, 纯度 ≥ 99.999%, 流速为 1.5 mL/min, 采用恒流模式, 尾吹 60 mL/min; 进样口温度为 260 °C (选用不带玻璃毛的不分流衬管), 检测器为 310 °C; 不分流进样方式; 升温程序为初始 100 °C, 保留 1 min, 以 20 °C/min 的速率升温至 230 °C, 再以 5 °C/min 的速率升至 270 °C, 保留 2 min, 外标法定量。

1.2.4 回收率、精密度和检测限的计算方法

回收率的计算: 在空白样品中加入定量的标准物质(m_1), 按上述操作步骤分析, 所得的结果(m), 加标回收率(P) = $m_1/m \times 100\%$ 。

精密度的计算: 采用沙状的沉积物样品作为基准物, 将 8 种标准物质分别采用两种不同的添

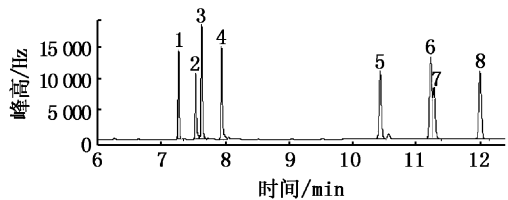
加量做加标回收实验,5次重复,计算相对标准偏差。

检测限的计算:检测限是连续分析7个接近于仪器检测限浓度的实验室空白加标样品,计算其相对标准偏差S,再根据以下公式计算检测限。 $MDL = St_{(n-1,0.98)}$,其中:t为置信度为98%、自由度为n-1时的t值。

2 结果

2.1 不同极性色谱柱的分离效果

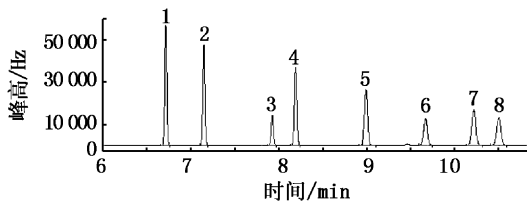
两个色谱柱对8种有机氯农药的分离效果如图1和图2。根据分离度的计算,一般认为分离度 $R \geq 1.5$ 时,两个峰达到了完全分离,本实验图1中DB-5毛细管柱对p,p'-DDD和p,p'-DDT分离度小于1.5,没有完全分离。图2显示,DB-1701毛细管柱将有机氯中8种成分完全分开。



1. α -HCH; 2. γ -HCH; 3. β -HCH; 4. δ -HCH; 5. p,p'-DDE; 6. p,p'-DDD; 7. o,p'-DDT; 8. p,p'-DDT。

图1 DB-5毛细管柱对8种有机氯农药分离的气相色谱图

Fig1 GC chromatogram of the 8 mixtures of OCPs separated by DB-5 column



1. α -HCH; 2. γ -HCH; 3. β -HCH; 4. δ -HCH; 5. p,p'-DDE; 6. o,p'-DDT; 7. p,p'-DDD; 8. p,p'-DDT。

图2 DB-1701毛细管柱对8种有机氯农药分离的气相色谱图

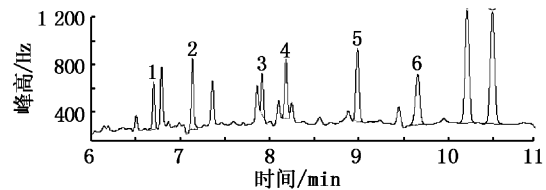
Fig2 GC chromatogram of the 8 mixtures of OCPs separated by DB-1701 column

2.2 净化

2.2.1 不同规格固相萃取小柱的净化效果

实验结果显示,2 g Florisil SPE小柱较之1 g小柱净化效果好,杂质峰较少,但仍有很多色素类杂质会走穿柱子,基线偏高,影响目标物的定

量。图3为Florisil SPE小柱和Carbon-GCB SPE小柱串联对加标样品的净化效果图,杂质峰较少,基线较为平稳,峰形对称。



1. α -HCH; 2. γ -HCH; 3. β -HCH; 4. δ -HCH; 5. p,p'-DDE; 6. o,p'-DDT; 7. p,p'-DDD; 8. p,p'-DDT。

图3 加标样品采用Florisil SPE小柱和Carbon-GCB SPE小柱串联净化后的气相色谱图

Fig.3 GC chromatogram of the sample purified by Florisil SPE column and Carbon-GCB SPE column

2.2.2 不同淋洗液和淋洗体积的确定

采用不同淋洗液对标准品进行洗脱,洗脱效果见表1。从回收率的计算结果看,正己烷-丙酮混合液2作为洗脱液,有机氯农药的回收率达到99.6%,有机氯农药基本上都被洗脱下来,较之其他两种净化效果理想。

表1 不同淋洗液的洗脱效果

Tab.1 Effect of different kinds of eluent on recoveries of OCPs

淋洗液种类	回收率
正己烷-丙酮($V_{\text{正己烷}}:V_{\text{丙酮}}=9:1$)	99.6%
石油醚-乙酸乙酯($V_{\text{石油醚}}:V_{\text{乙酸乙酯}}=9:5$)	90.2%
正己烷	88.0%

用1.2.2中方法确定淋洗液用量,结果如图4。结果显示,在前2 mL无目标物流出,在第3 mL有少量的目标物,但仅占总量的0.5%,在4 mL~10 mL收集到大部分目标物,占到总量的99.1%,在10 mL后未发现目标物,所以至少需要10 mL的洗脱液才能将目标物完全洗脱,结合我们实验结果,确定洗脱体积为10 mL。

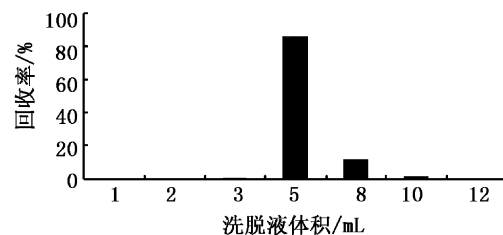


图4 洗脱液用量对有机氯农药回收率的影响

Fig.4 Effect of volume of eluent on recoveries of OCPs

2.2.3 线性方程和检测限

采用 DB-1701 毛细管柱进行分离,准确量取一定量的有机氯混合标准溶液,用正己烷将混合标准溶液逐级稀释,各个标准溶液的浓度梯度分别为 α -HCH: 20、8、4、2、0.8 ng/mL, β -HCH: 50、20、10、5、2 ng/mL, γ -HCH 和 δ -HCH: 30、12、6、3、1.2 ng/mL, p, p'-DDD 和 o, p'-DDT: 50、20、10、5、2 ng/mL, p, p'-DDE: 40、16、8、4、1.6 ng/mL, p, p'-DDT: 75、30、15、7.5、3 ng/mL。进样量

1 μ L,以峰高为纵坐标,以质量浓度为横坐标,绘制标准曲线并计算回归方程,结果见表 2。

在上述气相色谱仪器条件下的各个组分检出限为 α -HCH: 1.96×10^{-4} mg/kg, β -HCH: 1.45×10^{-6} mg/kg, γ -HCH: 1.90×10^{-4} mg/kg, δ -HCH: 1.98×10^{-4} mg/kg, p, p'-DDD: 2.47×10^{-6} mg/kg, o, p'-DDT: 1.08×10^{-4} mg/kg, p, p'-DDE: 1.59×10^{-4} mg/kg, p, p'-DDT: 2.52×10^{-4} mg/kg。

表 2 有机氯农药标准溶液的回归方程
Tab. 2 Regression equation of OCPs' standard solution

农药	保留时间	线性范围/(ng/mL)	线性方程	相关系数
α -HCH	6.703	0.8 ~ 20	$Y = 331.89x - 168.43$	0.998 17
γ -HCH	7.138	1.2 ~ 30	$Y = 294.68x - 189.41$	0.999 43
β -HCH	7.919	2 ~ 50	$Y = 99.79x - 51.50$	0.999 56
δ -HCH	8.183	1.2 ~ 30	$Y = 233.11x - 158.59$	0.998 57
p, p'-DDE	8.984	1.6 ~ 40	$Y = 128.73x - 109.28$	0.998 69
o, p'-DDT	9.661	2 ~ 50	$Y = 64.92x - 86.34$	0.998 91
p, p'-DDD	10.209	2 ~ 50	$Y = 101.85x - 80.59$	0.999 28
p, p'-DDT	10.493	3 ~ 75	$Y = 62.49x - 153.89$	0.998 52

2.2.4 准确度和精密度

按照 2.2.1 ~ 2.2.3 得出的结论进行操作,选择沙状的沉积物样品,按照 α -HCH 添加量为 0.4、4.0 μ g/kg, β -HCH 添加量为 1.0、10.0 μ g/kg, γ -HCH 添加量为 0.6、6.0 μ g/kg, δ -HCH 添加量为 0.6、6.0 μ g/kg, p, p'-DDE 添加量为 0.8、8.0 μ g/kg, o, p'-DDT 添加量为 1.0、10.0 μ g/kg, p, p'-DDD 添加量为 1.0、10.0 μ g/kg, p, p'-DDT 添加量为 1.5、15.0 μ g/kg 进行加标,5 次重复添加回收率实验,以考察方法的准确性和精密度,结果见表 3。

2.2.5 方法的应用

选用泥质样品对此方法进行验证,采用两个不同浓度进行加标,5 次重复的添加回收率实验,计算平均回收率和相对标准偏差,结果见表 4。

3 讨论

3.1 色谱条件

目前有机氯农药主要以气相色谱配电子捕获检测器和气相色谱-质谱作为主要研究手段,选择合适的色谱条件是有机氯农药残留准确定量的关键。有机氯农药属于中等偏弱极性化合物,选用中低极性键合交联柱作为色谱分离柱,实验结果表明,DB-1701 色谱柱的固定相引入了 14%

氰丙基苯基,对有机氯农药中 DDT 有更好地分离度,可以将 8 种农药完全地分开。有机氯农药沸点较高,一般柱温在 220 ~ 250 $^{\circ}$ C 就能出来,进样口的温度选择略高于各组分的沸点,本实验进样口温度选择 260 $^{\circ}$ C,采用柱程序升温方式使得各个组分获得良好的分离。

表 3 沙质样品中 OCPs 的加标回收率和精密度
Tab. 3 Recovery rates and precision of OCPs in sandy sediments (n = 5)

农药	加标量 / (μ g/kg)	平均回收率 / %	相对标准偏差 RSD / %
α -HCH	0.4	76.6	5.23
	4.0	82.3	6.17
β -HCH	1.0	81.4	4.56
	10.0	85.5	4.32
γ -HCH	0.6	79.7	6.57
	6.0	90.1	5.21
δ -HCH	0.6	82.5	5.78
	6.0	86.7	4.34
p, p'-DDE	0.8	81.4	6.21
	8.0	92.0	3.09
p, p'-DDD	1.0	74.5	5.27
	10.0	87.8	4.33
o, p'-DDT	1.0	82.5	6.67
	10.0	89.0	5.28
p, p'-DDT	1.5	77.8	6.12
	15.0	83.5	3.21

表4 泥质样品 OCPs 的加标回收率和精密度

Tab.4 Recovery rates and precision of OCPs in muddy sediments (n=5)

基质性状	农药	加标量 /($\mu\text{g}/\text{kg}$)	平均回收率 /%	相对标准偏差 RSD/%
泥质	α -HCH	0.4	77.8	4.23
		2.0	82.5	5.89
	β -HCH	1.0	79.1	6.12
		5.0	89.0	5.48
	γ -HCH	0.6	82.3	6.24
		3.0	86.9	3.78
	δ -HCH	0.6	78.0	5.89
		3.0	89.4	4.69
	p,p'-DDE	0.8	82.4	3.12
		4.0	90.0	4.56
	p,p'-DDD	1.0	85.6	8.71
		5.0	92.0	4.56
	o,p'-DDT	1.0	79.8	4.68
		5.0	85.6	5.12
p,p'-DDT	1.5	82.7	4.78	
	7.5	89.7	3.21	

3.2 净化方法

国家标准方法^[6](GB 17378.5—2007)采用柱层析对样品进行净化,这种方法自己填充柱子,具有实验成本低等优点,但操作步骤较为耗时,同时消耗大量的淋洗液,为此,本文采用固相萃取方法。固相萃取(SPE)是一种用途广泛而且越来越受欢迎的样品前处理技术^[7-9],与液-液萃取相比,固相萃取更有效,更容易达到定量萃取、快速和自动化,同时也减少了溶剂用量和工作时间,特别适合有大量检测任务的实验室。

沉积物中脂肪、类脂物及色素等成分的去是前处理的关键步骤。弗罗里硅土属于氧化镁复合的极性硅胶吸附剂,适合于从非极性基质中吸附极性化合物,可以有效地去除类脂物和色素,因此本研究采用 Florisil SPE 小柱。在实验过程中发现,对于基质复杂、干扰物较多的沉积物样品,采用单根 Florisil SPE 小柱或适量增加 Florisil 填料的量并不能有效去除干扰物,色素类有机质仍会走穿柱子,洗脱液经氮气吹干后,管壁仍有白色物质残留,从色谱图看,基线较高,影响低浓度目标物的定量。因此,针对基质较为复

杂的沉积物样品采用 Florisil SPE 小柱和 Carbon-GCB SPE 小柱串联进行净化,实验结果显示,净化后的样液澄清,色谱峰基线平稳,杂峰较少。

通过对沉积物样品超声提取,铜粉去硫,并采用 Florisil SPE 小柱和 Carbon-GCB SPE 小柱串联进行净化,以及对气相色谱条件的改进和优化,得出结论:本研究方法溶剂用量少,操作步骤简单,与同类方法相比较,该方法大大提高实验室批量样品的检测效率,且重现性好,能满足当前沉积物中有机氯农药残留的检测要求。

参考文献:

- [1] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局,中国国家标准化管理委员会. GB 18668—2002 海洋沉积物质量[S]. 北京:中国标准出版社,2002.
- [2] 施治,潘波,范巍,等. 含硫沉积物中有机氯农药的样品提取、净化与测定[J]. 农业环境科学学报,2003,22(6):689-692.
- [3] 路瑞,秦延文,郑丙辉,等. 沉积物中有机氯农药超声波提取分析方法研究[J]. 环境科学研究,2008,21(3):135-140.
- [4] 吴宇峰,李利荣,时庭锐,等. 土壤和沉积物中17种有机氯农药残留量的测定[J]. 环境科学与技术,2007,30(1):37-38.
- [5] YANG R Q, LV A H, SHI J B, et al. The levels and distribution of organochlorine pesticides (OCPs) in sediments from the Haihe River, China[J]. Chemosphere, 2005, 61(3):347-354.
- [6] VAGI M C, PETSAS A S, KOSTOPOULOU M N, et al. Determination of organochlorine pesticides in marine sediments samples using ultrasonic solvent extraction followed by GC/ECD[J]. Desalination, 2007, 210(1/3):146-156.
- [7] 车明秀,郭亚飞,余晓平,等. 沉积物样品有机氯农药残留分析的前处理技术研究进展[J]. 安徽农学通报,2010,16(21):139-143.
- [8] ZHOU R B, ZHU L Z, YANG K, et al. Distribution of organochlorine pesticides in surface water and sediments from Qiantang River, East China. [J]. Journal of Hazardous Materials, 2006,137(1):68-75.
- [9] 吴林,吴晓波,张承聪,等. 固相萃取-气相色谱法测定茶叶中多氯联苯和有机氯农药残留[J]. 云南化工,2011,38(2):21-24.

Determination of HCH and DDT residues in sediments by solid phase extraction with gas chromatography

JIANG Lin-lin, YE Mei, LUO Dong-lian

(Fisheries Research Institute of Fujian, Xiamen 361012, Fujian, China)

Abstract: A steady detection method for HCH and DDT residues in sediments is developed by improving the front disposal measure and chromatogram condition, which accords with the requirements of laboratory measurement for batch samples. The sample is extracted by acetone-hexane (1:1) mixture with 2g copper for removing sulfide. The extraction is purified by Florisil SPE column and Carbon-GCB SPE column and eluted by acetone-hexane(1:9) mixture. The concentration is analyzed by gas chromatograph equipped with DB-1701 column, quantified by the external standard method. The average recovery of added test in sandy sediments is between 74.5% and 92.0%, and the RSD% is between 3.09% and 6.67%. The detection limit is: α -HCH: 1.96×10^{-4} mg/kg, β -HCH: 1.45×10^{-6} mg/kg, γ -HCH: 1.90×10^{-4} mg/kg, δ -HCH: 1.98×10^{-4} mg/kg, p,p'-DDD: 2.47×10^{-6} mg/kg, o,p'-DDT: 1.08×10^{-4} mg/kg, p,p'-DDE: 1.59×10^{-4} mg/kg, p,p'-DDT: 2.52×10^{-4} mg/kg. The method is verified by the added test on muddy sediments, and the recovery and RSD% meet the detection requirements of pesticides residue in sediments.

Key words: SPE; sediments; organochlorine pesticides; residue; gas chromatography