

文章编号 :1002-1124(2010)06-0026-04

气相色谱法测定 水产品中硝基苯残留量

陈 丽¹ 杨长志² 刘 永² 吴 岩² 程 阳²

(1.哈尔滨市鱼苗繁育试验场 黑龙江 哈尔滨 150046 2.黑龙江出入境检验检疫局 黑龙江 哈尔滨 150001)

摘 要 本文建立了一种测定水产品中硝基苯残留量的气相色谱-质谱法。样品用乙腈提取,经液液分配后,用中性 Al_2O_3 固相萃取柱净化,利用气相色谱-质谱仪测定,外标法定量。硝基苯的浓度在 $0.005\sim 1.000\mu g\cdot mL^{-1}$ 范围内时,其相关系数和回归方程分别为 $r=0.99994$ 和 $y=8555.93x-30.11$ 。样品平均加标回收率在 $71.2\%\sim 93.6\%$ 之间,相对标准偏差为 $3.34\%\sim 4.18\%$ 。方法的最低检出限 $0.002mg\cdot kg^{-1}$ 。

关键词 硝基苯;气相色谱-质谱;水产品

中图分类号:O657.7

文献标识码:A

Determination of nitrobenzene residues in aquatic products by GC-MS

CHEN Li¹, YANG Chang-zhi², LIU Yong², WU Yan², CHENG Yang²

(1.Harbin Fry Breed Experimental Station, Harbin 150046, China 2.Heilongjiang Entry & Exit Inspection and Quarantine Bureau, Harbin 150001, China)

Abstract A GC-MS method was developed for the determination of nitrobenzene residues in aquatic products. The nitrobenzene residue in the test sample are extracted with acetonitrile. After liquid-liquid extraction, the residues is cleaned up by solid phase extraction with a neutral aluminum oxide cartridge. The residue is determined by GC-MS using external standard method. The concentration range was $0.005\sim 1.000\mu g\cdot mL^{-1}$ for nitrobenzene. The correlation coefficients were 0.99994 for nitrobenzene. The regression equation was $y=8555.93x-30.11$. The average recoveries of nitrobenzene in spiked samples ranged from $71.2\%\sim 93.6\%$, and the relative standard deviations were between $3.34\%\sim 4.18\%$. The limit of detection was $0.002mg\cdot kg^{-1}$ in method.

Key words: nitrobenzene; GC-MS; aquatic products

硝基苯是一种重要的化工原料,主要用于染料、香料及炸药等化工行业。硝基苯等同系物是高毒性的可燃物质,是广泛存在的有机污染物,是国际公认危险化学品之一,被美国环保局规定为优先监测物,具有可疑致突变性和可疑致癌性。国家环保总局已经将其列入68种优先控制污染物名单。硝基苯具有高毒性,易挥发,对人体的危害主要表现在形成高铁血红蛋白、溶血和肝脏损害等。由于2005年11月13日发生了吉林石化公司双苯厂苯胺车间发生爆炸事件,致使大量硝基苯倾入松花江流域,造成松花江及黑龙江严重污染,使该地区饮用水及工农业用水水源遭到破坏,可能影响该地区的商品粮、蔬菜及畜禽产品的品质,对动、植物源性食品出口将造成一定影响。低浓度的硝基苯同系物污染水体能影响鱼类的洄游繁殖,浓度高时可使鱼

类大量死亡。使用含硝基苯同系物废水灌溉农田,将使农作物减产甚至枯死。为此,研究硝基苯对动、植物体生理生化及毒理学影响,硝基苯在动、植物源性食品中的残留动态,建立硝基苯环境评估及安全预警机制,不仅对该地区生产和生活,而且对降低俄、日、韩等国出口动植物源性食品贸易风险及黑龙江省的出口创汇具有重要意义。

有关动、植物源性食品中硝基苯的测定方法国内外鲜有报道^[1-3],对饮用水及工农业用水中硝基苯检测的报道很多^[4-5]。目前,检测硝基苯常用方法有比色法、极谱法、液相色谱法和气相色谱法^[6-8],而比色法、极谱法、液相色谱法灵敏度低,不能检出ppb级的硝基苯残留,而气相色谱法(附ECD检测器)和气相色谱-质谱法灵敏度较高^[1,2,8]。本研究将采用中性 Al_2O_3 固相萃取柱净化技术,建立水产中硝基苯的残留量气相色谱-质谱检测方法,满足实际检测工作需要。

收稿日期:2010-03-23

作者简介:陈丽(1963-),女,工程师。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

Agilent 5973 气相色谱 - 质谱联用仪 ;DS-1 组织捣碎机 ;TDZ5-WS 离心机 ;SI-T246 旋涡混合器 ;IKA-25basic 均质器。

正己烷、乙腈(C.P. 科密欧公司) ;无水 Na_2SO_4 (A.R. 经 650°C 灼烧 4 h ,置于干燥器内备用) ;硝基苯色谱标准品 (纯度为 99.5 % 国家环境保护总局) ;中性 Al_2O_3 (100~200 目 马福炉 550°C 灼烧 4 h ,于干燥器中冷却 ,用前在 130°C 活化 2 h ,冷却至室温后使用) ;层析柱 :1 cm(内径) \times 20 cm(高)的注射器状玻璃管 ;

中性 Al_2O_3 固相萃取柱 :在层析柱中干法依次装入约 1 cm 高的无水 Na_2SO_4 、5 g 处理过的 Al_2O_3 (约 5 cm 高)、约 1 cm 高的无水 Na_2SO_4 ,每层要轻敲平、敲实后再加入下一层填料 ;用 10 mL 乙酸乙酯及 20 mL 正己烷依次预淋洗后 ,干涸前使用。

1.2 样品处理

1.2.1 提取 称取 5 g(准确至 0.01 g)样品于 50 mL 玻璃离心管中 ,加入 2 g 无水 Na_2SO_4 ,再加入 10 mL 乙腈 ,用均质器均质 3 min(10000 转以上) ,4 000 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 5 min。上清液转移至 250 mL 分液漏斗中 ,再加入 10 mL 乙腈重复提取一次 ,合并上清液于同一分液漏斗中 ,加入 100 mL 2%的 Na_2SO_4 水溶液 ,混匀后加入 20 mL 正己烷 ,振荡 3 min ,静止分层 ,将下层水相部分转移至另一分液漏斗中 ,再用 20 mL 正己烷提取一次 ,转移正己烷层脱水后待净化。

1.2.2 净化 将上述正己烷样液依次慢慢加入固相萃取柱中 ,再用 2 mL 正己烷淋洗分液漏斗 ,一并注入固相萃取柱中 ,控制流速在 $1\sim 2\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ 。待样液完全流出后 ,用 3 mL 正己烷及 3 mL 乙酸乙酯洗涤固相萃取柱 ,弃去全部淋洗液 ,迅速用 10 mL 乙酸乙酯洗脱固相萃取柱 ,收集并定容至 10 mL。

1.2.3 气相色谱 - 质谱条件

色谱柱 DB-1701 或极性相当者 $30\text{m}\times 0.25\mu\text{m}\times 0.25\text{mmid}$;

色谱柱温度 80°C (保持 2min) $\xrightarrow{6^\circ\text{C}}$ 120°C $\xrightarrow{30^\circ\text{C}}$ 210°C (保持 2min) ;

进样口温度 230°C ,不分流进样 ;

载气 :He 纯度 $>99.999\%$, $1.5\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ 。

色谱 - 质谱接口温度 280°C ;

电离方式 :EI ;

电离能量 :70eV ;

监测方式 选择离子(SIM)方式 ;

监测离子 :51、77、123、124 $\text{m}\cdot\text{z}^{-1}$ 。

2 结果与讨论

2.1 提取条件的选择

硝基苯化合物的电负性较强 ,是一种极性化合物 ,能溶于乙腈、乙酸乙酯、氯苯、苯及正己烷等有机溶剂。所以对水产品中硝基苯的提取一般不能选用弱极性提取剂 ,而选用极性强的乙腈作为提取试剂 ,可以有效地除去脂类及可溶性蛋白等杂质 ,在相转移的过程中可以将乙腈转移至水相而不影响固相萃取过程。在提取过程中可适当添加无水 Na_2SO_4 除去水产品中的水分。如果水分过多 ,一方面会显著降低硝基苯在乙腈中的溶解度 ,另一方面也使动物蛋白溶解性加大 ,在相转移过程中造成乳化现象。

2.2 净化条件的选择

由于硝基苯是一种蒸气压很低的溶剂 ,仅为 0.13kPa ,挥发性非常强 ,因此 ,试验过程中不能选用传统的浓缩方式 ,实验发现 ,选用旋转蒸发的方式浓缩 ,损失可达 85%以上 ,氮吹浓缩损失也在 80%以上 ,影响测定结果的准确性 ,所以给硝基苯的净化带来很大困难。虽然水蒸气蒸馏法^[2,4]是一种较好的样品净化方法 ,但操作起来比较麻烦 ,而且费时 ,不利于大批量样品的检测。为了更好地对提取液进行浓缩 ,本方法选用了固相萃取净化和浓缩一起进行的方式 ,解决了传统浓缩方式损失过大的问题。

2.2.1 固相萃取柱填料选择 在实验室过程中 ,分别对硅胶、氟罗里硅土和 Al_2O_3 进行了研究 ,其中硅胶极性较弱 ,对硝基苯的吸附差 ,首先排除掉 ,氟罗里硅土极性虽然比 Al_2O_3 弱 ,但仅从吸附作用讲可以满足要求 ,但氟罗里硅土去除脂肪作用稍差 ,对脂肪含量较高的样品不能取得较好的净化效果 ,中性 Al_2O_3 无论从吸附性还是去除脂肪效果方面都取得了良好的效果 ,因此 ,本实验选用 Al_2O_3 作为固相萃取柱填料。不过氧化铝吸附性强 ,杂质含量高于氟罗里硅土 ,对硝基苯的测定有一定影响 ,在柱活化时要首先用极性溶剂如乙酸乙酯洗掉极性杂质 ,再用正己烷改变其柱活性(乙酸乙酯存在使固相萃取柱对极性物质保留能力下降)。中性 Al_2O_3 活性是固相萃取的关键步骤 ,本实验分别用未去活、加 1% 水灭活和 3%水灭活 3 种方式进行选择 ,由于本实

验在柱吸附过程中需 40 mL 左右的正己烷,加水后活性降低,不能满足浓缩的要求,未经灭活的 Al_2O_3 也应在 3 日内使用,超过 3 日应重新活化处理。

2.2.2 溶剂介质及洗脱溶剂的选择 正相色谱分配过程除了固相萃取填料的选择外,淋洗液和洗脱液的选择也是固相萃取实验的关键步骤。动物源性食品中脂类杂质含量较高,脂类杂质是影响硝基苯测定的主要干扰物,因此,淋洗液和洗脱液一般不能使用极性太强的溶剂,防止脂类杂质随淋洗液或洗脱液流出,净化效果不理想。为保证硝基苯在固相萃取柱上的保留能力,上样液选择了极性较弱的正己烷作为介质,淋洗液的选择要用与上样液互溶,且能淋洗部分弱极性和极性较强杂质,本实验选用 5 mL 正己烷淋洗弱极性杂质,5 mL 乙酸乙酯-正己烷(6+4)淋洗极性杂质;洗脱液一般选择有极性较大变化的溶剂,用丙酮、乙酸乙酯及其与正己烷的混合液进行洗脱实验,乙酸乙酯-正己烷(5+5)的混合液净化作用较好,不会把吸附的极性杂质一同洗脱下来,但所需 20 mL 洗脱液才能完全洗脱,考虑到本试验需要固相萃取过程具有浓缩的作用,因此,试验更多地考虑了浓缩的作用而牺牲部分净化功能,因此,选择了 10 mL 乙酸乙酯作为洗脱溶剂。

2.2.3 洗脱曲线 固相萃取柱上样前用乙酸乙酯淋洗 Al_2O_3 中的杂质,再用正己烷改变柱活性(乙酸乙酯使固相萃取柱保留能力下降),将正己烷介质的溶液约 40 mL 上样后,再用 2 mL 淋洗弱极性杂质,3 mL 乙酸乙酯淋洗极性杂质,弃去以上淋洗液。

配制 $0.0009 \mu g \cdot mL^{-1}$ 的硝基苯溶液 40 mL,按以上方法上样后,用所选乙酸乙酯作为洗脱溶剂,将洗脱液每毫升单独接收后上机测定,可得到以下工作曲线(图 1)。

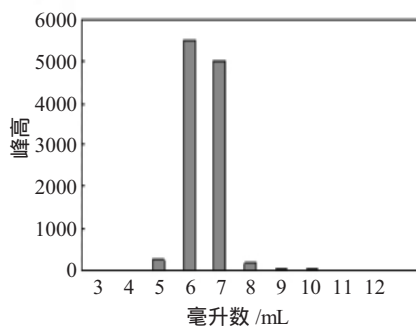


图 1 固相萃取柱乙酸乙酯洗脱曲线

Fig.1 Elution curve of solid phase extraction for acetic ether

从图 1 中可以看出,洗脱液从第 5 mL 开始有硝基苯流出,第 6 mL 达到最大值,然后迅速下降,

第 10 mL 全部洗脱,洗脱率为 96.02%,其中第 6、7 mL 洗脱量最大,约占总洗脱量的 91.48%。如果测定方法检出限偏高,可以通过减少洗脱量的方式降低检出限,只接收第 6、7 mL 样品,灵敏度最多可提高 5 倍。

2.3 色谱柱的选择

试验中用 DB-5、DB-1701、DB-225、DB-WAX 4 种极性的色谱柱分别进行测定,极性较强的色谱柱色谱峰对称性不好,影响硝基苯的色谱行为,因此,本实验选用 DB-5 的色谱柱进行测定,柱保留时间适中,峰形对称,分离效果好。

2.4 线性范围的确定

将硝基苯标样配制成梯度系列标准溶液,以峰高为纵坐标,以硝基苯的浓度(或质量)为横坐标,绘制标准曲线,结果表明:当硝基苯的浓度在 $0.01 \sim 2.5 \mu g \cdot mL^{-1}$ 范围内时,线性关系良好,其相关系数和回归方程分别为 $r=0.99994$, $y=8555.93x-30.11$,见图 2。当样品中的硝基苯超过此线性范围时,可适当加大样品的稀释倍数。

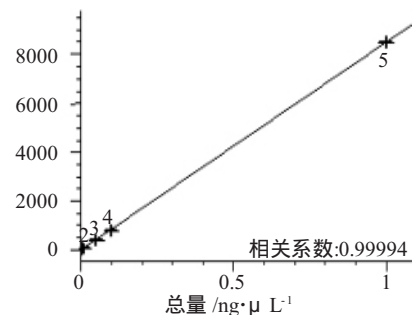


图 2 硝基苯线性关系图

Fig.2 Correlation coefficient of nitrobenzene

2.5 方法的测定低限、回收率和精密度

2.5.1 测定低限 测定低限是根据国家有关在鱼中对硝基苯限量要求,而采用添加法进行实测的情况确定的。硝基苯的测定低限为 $0.002 mg \cdot kg^{-1}$,可满足国内外限量要求。

2.5.2 回收率和精密度实验 本方法以鲤鱼肉为样品,采用标准添加法对添加样品分别进行回收率和精密度实验,结果见表 1。

表 1 室内回收率和精密度实验结果($n=10$)

Tab.1 Recovery and precision

样品名称	添加浓度 / $mg \cdot kg^{-1}$	平均测定值 /%	相对标准偏差 RSD/%
肉鱼	0.020	81.7~93.6	3.79
	0.010	73.5~93.3	3.34
	0.002	71.2~88.7	4.18

由表1可见,鲤鱼肉中硝基苯在添加水平 $0.002\sim 0.02\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时,样品平均加标回收率在 $71.2\%\sim 93.6\%$ 之间,相对标准偏差为 $3.34\%\sim 4.18\%$ 。方法的准确度和精密度均符合残留分析的要求。

3 结论

本实验对气相色谱-质谱法测定水产品中硝基苯残留量的方法进行了研究,采用乙腈高速均浆提取和固相萃取柱净化技术,建立了合适的水产样品提取、净化的前处理方法,并对气相色谱-质谱法条件进行了优化,建立了最佳色谱条件,方法的测定低限为 $0.002\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。该方法具有简便、快捷、灵敏、重现性好等特点,可满足水产品中硝基苯残留量检测方法的需要。

参 考 文 献

- [1] 魏志强,等.鱼体中硝基苯残留的气相色谱-质谱法测定[J].安徽农业科学,2009,37(35):17299-17305.
- [2] 刘永,等.粮谷中残留硝基苯的固相萃取前处理方法研究[J].食品科学,2008,29(2):314-317.
- [3] 玛依努尔,等.水蒸汽蒸馏萃取法测定鱼体样品中硝基苯[J].东北师大学报,2008,40(1):90-94.
- [4] 李利荣,等.固相萃取-气相色谱-质谱联用法测定水中的硝基苯类有机污染物的分析方法研究[J].分析试验室,26(3):34-38.
- [5] 付双,沙子健.顶空固相微萃取-气相色谱法测定水中的硝基苯[J].齐齐哈尔医学院学报,2009,30(18):2279-2280.
- [6] 马小奇,等.快速测定废水中苯胺、硝基苯方法研究[J].甘肃科技,2010,26(01):34-37.
- [7] 麻寒娜,等.活性炭纤维固相微萃取-气相色谱法测定海水中的硝基苯类和环酮类化合物[J].色谱,2009,27(03):341-345.
- [8] YOSHINORIN, TARNEO O. Determination of nitrobenzenes in river water, sediment and fish samples by gas chromatography-mass spectrometry[J]. Analytica Chimica Acta, 1995, 312:45-55.

(上接第12页)

内外温差不是很大,在载体所能承受的范围之内,所以聚合物破裂的相对较少。细粉含量过高,会制约装置的生产能力、牌号控制、长周期运行的稳定性和能耗^[9]。

3 结论

通过对催化剂的活性、产物的堆密度、细粉含量3方面进行综合考虑,得出以下结论:

(1)内给电子体的加入使Mg/Ti摩尔比增加,催化剂活性中心的分散性增加,乙烯聚合的活性增大。

(2)酯类内给电子体含氧基团多,使Ti周围的电子云密度增大,增强基团的稳定性,有利于提高催化剂的活性,使所得聚合物堆密度提高,细粉含量减少。

(3)在所考察的内给电子体中,正硅酸乙酯是合成该催化剂的最佳内给电子体。

参 考 文 献

- [1] 崔楠楠,张志成,李化毅,等.给电子体在丙烯聚合MgCl₂载体催化体系中的作用[J].高分子学报,2005,12(6):902-906.
- [2] 肖士镜,余赋生.烯烃配位聚合催化剂及聚烯烃[M].北京:北京工业大学出版社,2002.
- [3] 罗河宽.用于乙烯聚合或共聚的球形催化剂及其制备方法和用途[P].CN:1291618A,2001-04-18.
- [4] 李维真,张文平,张新军.球型乙烯聚合催化剂的制备及性能[J].石化技术,2004,11(2):26.
- [5] Wolf CR, Forte MMC, dos Santos JH Z. Characterization of the nature of chemical species of heterogeneous Ziegler-Natta catalysts for the production of HDPE[J]. Catalysis Today, 2005, 107-108:451-457.
- [6] 谢光华,王圣,于岗.高效催化剂中给电子体对乙烯聚合动力学行为的影响[J].高分子学报,1991,(6):743-745.
- [7] 蒋浩.乙烯淤浆聚合体系相平衡及气液传质研究[D].浙江大学硕士学位论文,2008.
- [8] 杨泽.Ti-Mg催化剂的活性及载体的研究[D].浙江大学硕士学位论文,2008.
- [9] 杨红旭,郭子方,周俊领.高性能淤浆法聚乙烯催化剂的研究[J].石油化工,2007,36(11):1119-1122.