

研究论文

DOI: 10.3724/SP.J.1123.2011.00228

用于气相色谱和气相色谱-质谱测定植物样品中 含氯有机污染物残留的样品前处理方法

佟 玲, 杨佳佳, 吴淑琪*

(国家地质实验测试中心, 北京 100037)

摘要: 根据植物样品中的主要干扰物质, 建立了用于气相色谱(GC)和气相色谱-质谱联用(GC-MS)测定植物样品中含氯有机污染物残留的样品前处理方法, 有效提高了对植物样品中有机氯农药及多氯联苯检测的灵敏度。采用均质提取法对样品进行提取, 考察了凝胶渗透色谱(GPC)和固相萃取(SPE)对提取液的净化效果。结果发现, 采用GC测定目标物时, 提取液需经GPC和SPE两次净化; 而采用GC-MS测定目标物时, 仅用SPE一次净化即可。该方法快速、经济、灵敏, 适合多种植物样品中有机污染物残留分析的样品前处理要求。

关键词: 气相色谱; 气相色谱-质谱; 样品前处理; 有机氯农药; 多氯联苯; 植物

中图分类号: O658 文献标识码: A 文章编号: 1000-8713(2011)03-0228-06

Sample pretreatment for determination of chlorinated organic pollutants in plants by gas chromatography and gas chromatography-mass spectrometry

TONG Ling, YANG Jiajia, WU Shuqi*

(National Research Center for Geoanalysis, Beijing 100037, China)

Abstract: The sample pretreatment methods for the determination of chlorinated organic pollutants in plants by gas chromatography (GC) and GC-mass spectrometry (MS) were established. The homogeneous extraction was used to extract the chlorinated organic pollutants from plants. The main interferences in the co-extract from several kinds of plant samples were recognized. The sensitivity of the analysis on organochlorine pesticides and polychlorinated biphenyls (PCB) in plant samples was effectively improved. The removal efficiency of the interferences from the extract by gel permeation chromatography (GPC) and solid-phase extraction (SPE) was investigated. The impurities such as fatty acids and phenols can be cleaned-up through a Carb/NH₂ SPE column with 20 mL mixed solvent of hexane-ethyl acetate (8:2, v/v) in 3% toluene as the eluent, and the recoveries were higher than 74%. It was necessary to combine GPC with SPE as the clean-up method when the sample was determined by GC, and only the SPE as the clean-up method was used if a mass spectrometer was employed as a detector. The methods are rapid and sensitive, and can be used in the analysis of organic pollutant residues in plant samples efficiently.

Key words: gas chromatography (GC); gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS); sample pretreatment; organochlorine pesticides; polychlorinated biphenyls (PCB); plants

有机氯农药及多氯联苯(PCB)作为持久性有机污染物, 对水体、土壤以及生态系统污染会造成长期影响^[1-4]。人们常通过测定植物样品中这些污染物

的含量来表征污染物对生态环境及人体健康的影响。然而植物样品的成分复杂, 样品前处理时的干扰物较多, 给目标化合物的准确分析带来困难。因

* 通讯联系人: 吴淑琪, 研究员, 主要研究方向为环境地球化学分析。Tel: (010) 68999554, E-mail: wushuqi@cags.net.cn.

基金项目: 国家地质实验测试中心基本科研经费项目(No. 2009CSJ03)和中国地质调查局地质调查工作项目(No. 1212010816028)。

收稿日期: 2010-11-04

此必须了解其中的主要干扰物质成分,才能有针对性地采取有效的净化措施。样品前处理技术是分析检测中的关键技术^[5]。国内外关于食品中有机氯农药、有机磷杀虫剂等残留分析方法报道较多^[6-9],建立的方法多适用于农产品质量检测的要求,而同时检测环境调查样品中有机氯农药与 PCB 的方法较少。本文对几种不同类型植物样品检测中发现的主要干扰物的提取方法进行了优化。根据气相色谱(GC)和气相色谱-质谱(GC-MS)检测方法的特点确定了净化方法,为满足环境地质调查中低含量水平、大批量样品的检测要求奠定了基础。

1 实验部分

1.1 仪器

T25 基本型均质器,配有 S25N-18G 分散刀头(德国 IKA 公司); KL512/509J 型 12 位恒温水浴氮吹仪(北京康林科技股份有限公司); Rotavapor R-210 旋转蒸发仪(瑞士 BUCHI 公司); 自动凝胶渗透色谱仪(美国 LabTech 公司); Varian 450GC-240MS 气相色谱-质谱联用仪,配内离子源离子阱质量分析器和 8400 自动进样器。GC2010 气相色谱仪配电子捕获检测器(ECD)(日本岛津公司)。

1.2 试剂及材料

25 种目标化合物及 3 种替代物(具体名称见表 1)的标准溶液购自国家标准物质研究中心,每种标准溶液的含量均为 10 $\mu\text{g/g}$,用异辛烷作溶剂配制。其中 2,4,5,6-四氯间二甲苯(TCMX)、2,2',4,5',6'-五氯联苯(PCB103)和 2,2',3,4,4',5,6,6'-八氯联苯(PCB204)均为替代物,用于考察方法的回收率。

正己烷、乙酸乙酯、丙酮、环己烷均为色谱纯;无水硫酸镁、氯化钠均为分析纯。

植物样品选用不同基质类型的果蔬类样品,其中包括果菜类、甘蓝类、叶菜类、根/块茎类蔬菜和仁果类水果共 5 类,即黄瓜、西红柿、圆白菜、菠菜、胡萝卜、苹果、梨共 7 种样品。样品均在超市购买。

1.3 样品的提取

准确称取 15 g 样品,加入 7 g 氯化钠、40 μL 200 $\mu\text{g/L}$ 的 3 种替代物溶液和 40 mL 丙酮-乙酸乙酯(1:1, v/v),匀浆均质提取。将提取液过滤至另一容器。重复提取一次。合并滤液,加入 5 g 无水硫酸镁静置 30 min,提取液浓缩后待净化。

1.4 样品的净化

凝胶渗透色谱(GPC)净化:将浓缩后的提取液用流动相(环己烷-乙酸乙酯(1:1, v/v))定容至 3 mL,经 GPC 柱(250 mm \times 20 mm,填料为 SX-3(美国 Biobeads 公司,色谱级,200~400 目))净化,定量环为 2.0 mL(上样量相当于 10 g 样品)。流动相流速为 4 mL/min。收集第 11~20 min 的淋洗液,浓缩时采用正己烷替换溶剂,定容至 1~2 mL。

固相萃取(SPE)净化:将浓缩后的提取液上样至 Bound Elut Carb/ NH_2 小柱(6 mL/500 mg,美国 Varian 公司),分别用淋洗液(含 3% 甲苯的正己烷-乙酸乙酯(8:2, v/v))和正己烷各 10 mL 预淋洗,上样,用淋洗液转移样品 3 次,再进行洗脱,共收集淋洗溶液 20 mL,浓缩后用正己烷定容至 1 mL。

1.5 仪器条件

GC 条件:DM-5 毛细管色谱柱(50 m \times 0.25 mm \times 0.25 μm ,天津迪马公司)。柱温升温程序:初始温度 120 $^\circ\text{C}$;以 6 $^\circ\text{C}/\text{min}$ 升至 220 $^\circ\text{C}$,保持 1.0 min;以 2 $^\circ\text{C}/\text{min}$ 升至 265 $^\circ\text{C}$;以 20 $^\circ\text{C}/\text{min}$ 升至 280 $^\circ\text{C}$,保持 8 min;以 50 $^\circ\text{C}/\text{min}$ 升至 300 $^\circ\text{C}$,保持 10.68 min。分析时长共 60 min。进样口温度 250 $^\circ\text{C}$,载气为氢气,恒压模式,流速 0.63 mL/min。进样体积 1.0 μL ,不分流进样。

GC-MS 条件:柱温初始温度 80 $^\circ\text{C}$,保持 2.0 min;以 30 $^\circ\text{C}/\text{min}$ 升至 210 $^\circ\text{C}$;再以 2 $^\circ\text{C}/\text{min}$ 升至 250 $^\circ\text{C}$,保持 8.0 min;以 40 $^\circ\text{C}/\text{min}$ 升至 300 $^\circ\text{C}$,保持 5 min。分析时长共 40.58 min。进样口温度为 270 $^\circ\text{C}$,载气为氢气,柱流速 1.5 mL/min。进样体积 1.0 μL ,不分流进样。MS 采用选择离子监测(SIM)模式检测,离子阱温度 200 $^\circ\text{C}$,传输线温度 280 $^\circ\text{C}$,真空室温度 40 $^\circ\text{C}$ 。采用电子轰击电离(EI)源。选择的定性、定量离子见表 1。

表 1 有机氯农药、多氯联苯的色谱保留时间及定性、定量离子
Table 1 Retention times (t_R), qualitative ions, quantitative ions of organochlorine pesticides and polychlorinated biphenyls

Analyte	Compound	t_R/min	Quantitative ion (m/z)	Qualitative ion (m/z)
Pesticide	α -benzex (α -六六六)	11.591	219	181, 183, 217
	hexachlorobenzene (六氯苯)	11.831	284	284, 286, 142
	β -benzex (β -六六六)	12.231	219	181, 183, 217
	γ -benzex (γ -六六六)	12.424	219	181, 183, 217
	4,4'-dichlorobiphenyl (PCB15)	12.661	224	222, 224, 152
	δ -benzex (δ -六六六)	13.068	219	181, 183, 217

表 1 (续)
Table 1 (Continued)

Analyte	Compound	t_R /min	Quantitative ion (m/z)	Qualitative ion (m/z)
	<i>p p'</i> -DDE (<i>p p'</i> -滴滴伊)	20.216	246	246, 318
	2,4,4'-trichlorobiphenyl (PCB28)	13.955	256	186, 258, 256
	heptachlor (七氯)	14.597	274	272, 274, 237
	2,2',5,5'-tetrachlorobiphenyl (PCB52)	15.091	292	292, 290, 220
	aldrin (艾氏剂)	15.933	293	263, 293
	epoxide (环氧七氯)	17.562	353	353, 237
	<i>trans</i> -chlordane (反式-氯丹)	18.652	375	375, 377
	2,2',4,5,5'-pentachlorobiphenyl (PCB101)	18.817	326	326, 328, 254
	<i>cis</i> -chlordane (顺式-氯丹)	19.378	375	375, 237
	dieldrin (狄氏剂)	20.650	263	263, 277
	endrin (异狄氏剂)	21.891	265	263, 265
	2,3',4,4',5-pentachlorobiphenyl (PCB118)	22.155	326	326, 328, 254
	<i>p p'</i> -dichlorodiphenyl dichloroethane (<i>p p'</i> -滴滴滴)	22.595	235	165, 235, 237
	<i>o p'</i> -dichlorodiphenyl trichloroethane (<i>o p'</i> -滴滴涕)	22.816	235	165, 235, 237
	2,2',4,4',5,5'-hexachlorobiphenyl (PCB153)	23.417	360	360, 290
	<i>p p'</i> -dichlorodiphenyl trichloroethane (<i>p p'</i> -滴滴滴)	24.837	235	165, 235, 237
	2,2',3,4,4',5'-hexachlorobiphenyl (PCB138)	25.169	360	360, 290
	2,2',3,4,4',5'-heptachlorobiphenyl (PCB180)	29.827	324, 396	394, 324
	mirex (灭蚊灵)	32.405	237	272, 237
Alternative	2,4,5,6-tetrachlorometaxylene (TCMX)	10.711	244	242, 244, 246
	2,2',4,5,6-pentachlorobiphenyl (PCB103)	16.729	326	326, 328, 254
	2,2',3,4,4',5,6-octachlorobiphenyl (PCB204)	29.129	358	358, 430

2 结果与讨论

2.1 提取方法的优化

固体样品的提取方法较多^[10,11]。针对多种植物的新鲜样品,比较了振荡提取法、超声提取法以及均质提取法的提取效率。以丙酮-乙酸乙酯(1:1, v/v)为提取溶剂,提取2次,合并提取液,采用标准添加法考察提取回收率。结果表明,振荡提取法所需时间长、提取回收率不高(28种化合物的提取回收率为62.5%~77.8%,平均71.5%);超声提取法的提取回收率也较低(65.4%~77.1%,平均70.7%),可能是由于超声过程中产生热量,造成一些低沸点化合物挥发;相比之下,均质提取法的提取回收率最高(71.1%~84.3%,平均78.4%),这是由于均质提取时破坏了植物细胞的结构,溶剂与样品接触充分,提取更彻底。因此选用均质提取法作为实验提取方法。与此同时,根据实验结果选择用80 mL提取溶剂提取2次,从而不仅满足残留分析的要求,有机试剂用量和浓缩时间也可以接受。

2.2 净化方法的优化

2.2.1 样品中的主要干扰物质

本文选取果菜类、甘蓝类、叶菜类、根/块茎类蔬菜和仁果类水果样品进行实验。样品的提取液采用GC-MS全扫描后获得谱图,经过质谱库检索发现主要干扰物质分为6大类(见图1):①叶绿素。②长

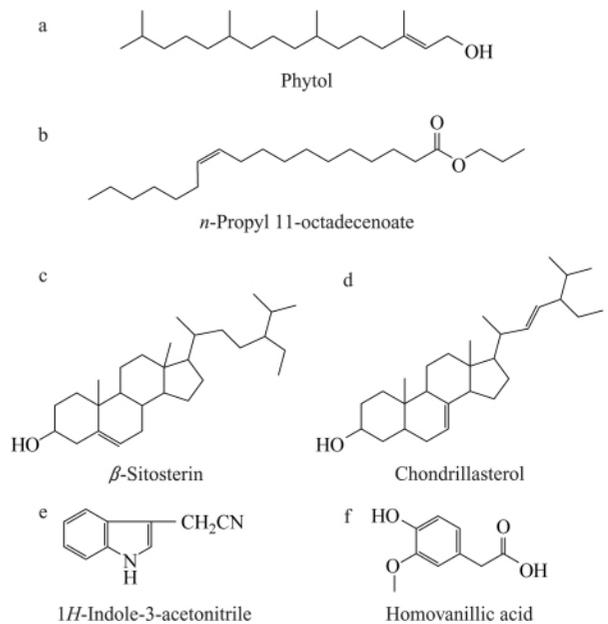


图 1 植物样品中的主要干扰杂质
Fig. 1 Main interferences in plants

Plants: a. spinach, cabbage; b. pear; c. apple; d. spinach; e. cabbage; f. tomato.

链烷烃、长链饱和醇、长链不饱和醇(叶绿醇)。如菠菜、圆白菜样品的色谱图经谱库检索发现有叶绿醇(图1a),该化合物是叶绿素的一个组成部分。③酯类化合物。谱库检索梨样品的色谱图发现了十八烯酸乙酯的酯类化合物(图1b),可能由于梨样品果皮中含有较多的蜡质造成。④甾醇类化合物。如菠

菜、苹果样品的色谱图中,保留时间为 25 ~ 30 min 处发现的较高的干扰物质峰为甾醇类化合物(图 1c、d)。⑤植物生长激素。如圆白菜样品色谱图在保留时间为 3 min 处发现了较大的干扰峰,经谱库检索发现是吲哚类物质(图 1e),是圆白菜叶中特有的植物生长激素。⑥其他干扰物质。如在西红柿样品的色谱图保留时间为 10.7 min 处发现了较大的干扰峰,经检索发现为高香草酸(图 1f)。

2.2.2 SPE 净化法

由于蔬菜、水果类植物样品中含有大量的色素、蜡质、脂肪酸、糖分等,它们在样品提取时被一起提取出来,干扰目标化合物的测定,因此选择合适的净化技术非常必要。有关样品净化的文献报道较多^[12-16]。针对上述样品中的主要干扰物质,选用 Bound Elut Carb/NH₂ SPE 小柱进行净化。通过向样品中添加 20 μg/kg 的混合标准溶液和 100 μg/kg 的替代物标准溶液,考察 SPE 净化的添加回收率,25 种目标分析物的回收率在 81.2% ~ 111.0% 之间,3 种替代物的回收率在 74.8% ~ 82.0% 之间,满足残留分析的要求。对所选样品的提取液进行 SPE 净化,结果发现 SPE 能除去大部分样品中的叶绿素。但根据提取液的颜色判断,净化后的菠菜样品提取液中还含有少量的叶黄素,胡萝卜样品提取液中还含有部分胡萝卜素。

2.2.3 GPC 净化法

GPC 能使目标化合物很好地与样品中的大分子色素、油脂分离^[17,18]。实验中以菠菜、胡萝卜样品的净化为例,15 g 样品经均质提取,提取液浓缩定容后用 GPC 净化。其中菠菜样品提取液的 GPC 色谱图中保留时间为 6 ~ 15 min 处有很大的干扰峰,此峰为大量的叶绿素、叶黄素、油脂类大分子物质(见图 2)。参照文献^[13]及本文的实验结果可知,

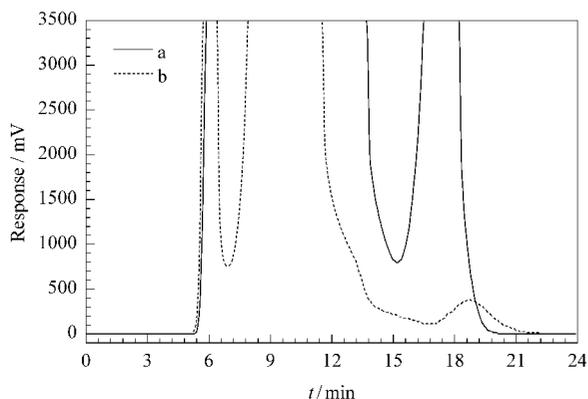


图 2 (a) 胡萝卜和(b)菠菜样品提取液的 GPC 谱图
Fig. 2 Chromatograms of the extracts of (a) carrot and (b) spinach cleaned-up by GPC

菠菜样品提取液经 GPC 净化收集的第 11 ~ 20 min 的流出液中大部分色素、油脂等干扰物质已被去除。添加回收实验结果表明,经 GPC 净化后的各化合物的回收率范围为 79.6% ~ 112.2%。

2.3 不同净化方法的比较

对 SPE 以及 GPC 结合 SPE 净化技术进行比较。所选用的 SPE 柱,其填料中石墨化炭黑能够去除样品中的色素; -NH₂ 是弱阴离子交换剂,能与带 -OH, -NH 或 -SH 官能团的物质形成氢键,从而去除脂肪酸及酚类等杂质。对于叶绿素、叶黄素含量高的样品如菠菜等,采用 GPC-SPE 净化方法(见图 3b)能够完全去除样品提取液中的色素类杂质,同时甾醇类大分子干扰物质也能被去除(包括 β-谷甾醇或菠菜甾醇,相对分子质量为 414),与单独 SPE 净化的结果(见图 3a)相比基线明显降低。而对于基质相对简单的样品,如黄瓜、圆白菜、西红柿、梨,采用单独的 SPE 净化方法与 GPC 结合 SPE 的方法净化效果差别不大(以图 4 的梨样品提取液为例,不同净化方法的干扰峰较相似)。

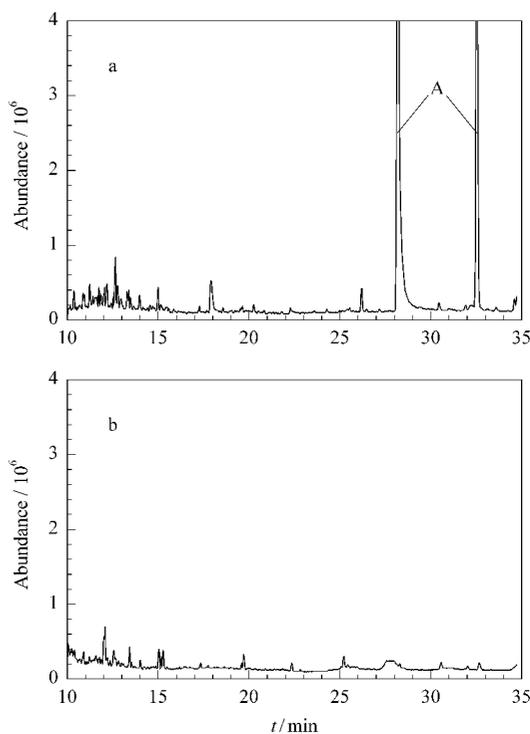


图 3 经 (a) SPE 净化和 (b) GPC 结合 SPE 净化后的菠菜样品提取液的 GC-TIC-MS 谱图
Fig. 3 GC-TIC-MS chromatograms of the extracts of spinach cleaned-up by (a) SPE and (b) GPC-SPE

A. sitosterin.

2.4 不同检测方法净化步骤的确定

本文采用 GC-ECD 及 GC-MS 两种检测手段对样品进行分析。ECD 是选择性检测器,除对含卤元

素的化合物响应外,大量含氧、氮、硫的化合物也会产生干扰峰,同时 GC 检测完全是根据保留时间定性,易造成假阳性结果,因此要求净化较为彻底。图 5 为经不同方式净化后的黄瓜样品提取液的 GC-ECD 谱图,从中可以看出经 SPE 净化后 *p, p'*-DDE 的保留时间处仍存在色谱峰,经过 MS 确证其为干扰杂质,采用 GPC 结合 SPE 净化后该峰被去除。因此,当采用 GC-ECD 测定样品时,提取液需采用 GPC-SPE 净化方式,方能得到好的测定结果。

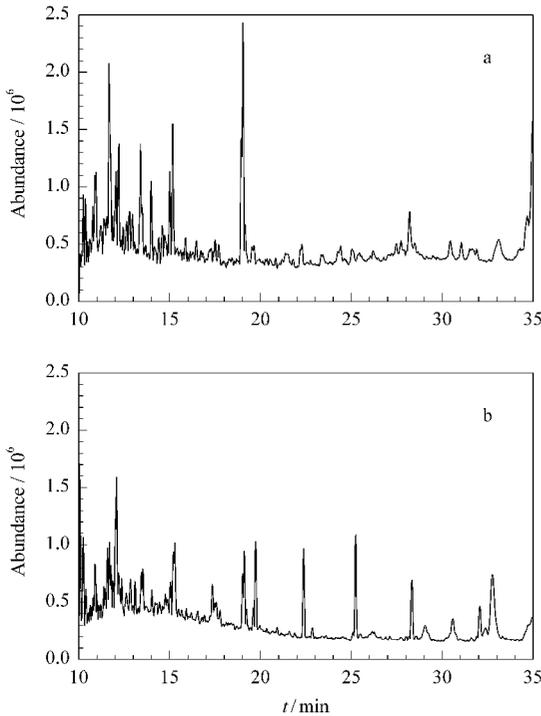


图 4 经 (a) SPE 净化和 (b) GPC-SPE 净化的梨样品提取液的 GC-TIC-MS 谱图
 Fig. 4 GC-TIC-MS chromatograms of the extracts of pear cleaned-up by (a) SPE and (b) GPC-SPE

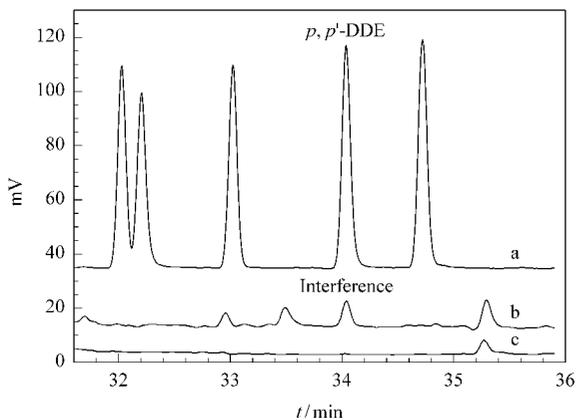


图 5 (a) 40 µg/L 混合标准溶液和经 (b) SPE 净化、(c) GPC-SPE 净化的黄瓜样品提取液的 GC-ECD 谱图
 Fig. 5 GC-ECD chromatograms of (a) standard solution of 40 µg/L, the extracts of cucumber cleaned-up by (b) SPE and (c) GPC-SPE

采用 GC-MS 检测时,在 SIM 模式下,通过对特征离子的筛选,能够有效地排除大量的干扰物质,大大提高了定性的准确性。从图 6 可看出,采用 GC-SIM-MS 分析时,单独用 SPE 净化和用 GPC-SPE 净化的检测结果差别不大。采用 Carb/NH₂ 联合的 SPE 小柱即可除去样品中大部分色素及脂肪酸、氨基酸等杂质,满足 GC-MS 分析对样品的要求。

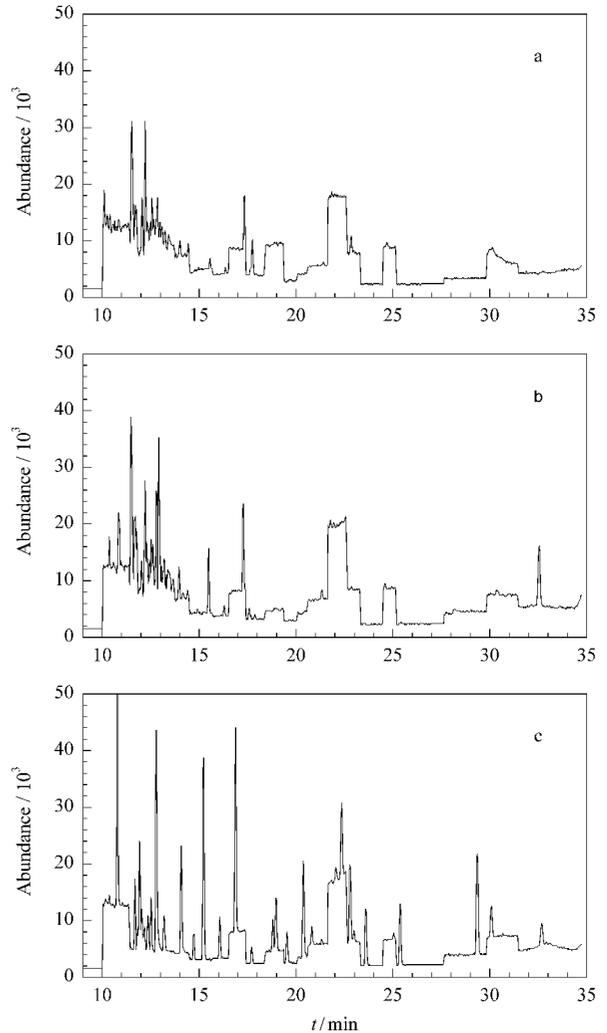


图 6 经 (a) GPC-SPE 净化、(b) SPE 净化的菠菜样品提取液和 (c) 20 µg/L 混合标准溶液的 GC-SIM-MS 谱图
 Fig. 6 GC-SIM-MS chromatograms of the extracts of spinach cleaned-up by (a) GPC-SPE, (b) SPE and (c) a mixed standard solution of 20 µg/L

3 结论

本文针对不同植物样品的干扰杂质进行了研究。根据植物样品含水量高、基质复杂的性质,针对不同检测方法的特点,选取了不同的净化方法,以满足不同层次实验室的分析要求。采用 GC-ECD 测定时需采用 GPC-SPE 净化;采用 GC-MS 测定时仅采

用 SPE 净化即可。本方法操作简便,能有效地减少前处理步骤对分析人员及环境的危害。

参考文献:

- [1] Li W D. Petrochemical Industry Application (李卫东. 石油化工应用), 2009, 28(6): 1
- [2] Lian M, Xu F, Guan W N, et al. Chinese Journal of Chromatography (廉玫, 许峰, 观文娜, 等. 色谱), 2008, 26(4): 484
- [3] Fang L P, Feng Y P, Liu H P, et al. Chinese Journal of Chromatography (房丽萍, 封跃鹏, 刘海萍, 等. 色谱), 2010, 28(5): 476
- [4] Li X M, Wang P, Li Y M, et al. Chinese Journal of Chromatography (李晓敏, 王璞, 李英明, 等. 色谱), 2010, 28(5): 449
- [5] Wu Y J, Yue H, Zhang D C, et al. Food and Nutrition in China (郇元娟, 岳晖, 张道成, 等. 中国食物与营养), 2008(4): 6
- [6] Kodba Z C, Voncina D B. Chromatographia, 2007, 66: 619
- [7] González-Rodríguez R M, Rial-Otero R, Cancho-Grande B, et al. J Chromatogr A, 2008, 1196/1197: 100
- [8] Sharif Z, Che Man Y B, Sheikh Abdul Hamid N, et al. J Chromatogr A, 2006, 1127: 254
- [9] Liu Y B, Jia L H, Niu S Y. Journal of Qingdao University of Science and Technology (刘永波, 贾立华, 牛淑妍. 青岛科技大学学报), 2003, 24(6): 491
- [10] Zhu J, Yang X, Zhou Y M. Liaoning Agricultural Sciences (朱捷, 杨欣, 周艳明. 辽宁农业科学), 2007(3): 61
- [11] Wang J L. Journal of Shanxi Agricultural Sciences (王洁莲. 山西农业科学), 2008, 36(10): 28
- [12] Fu S Y, Chen X S, Wang M, et al. Journal of Hangzhou Teachers College: Natural Science Edition (傅水玉, 陈晓生, 王明, 等. 杭州师范学院学报: 自然科学版), 2006, 5(2): 118
- [13] Tong L, Huang Y Y, Zhang L J, et al. Rock and Mineral Analysis (佟玲, 黄园英, 张玲金, 等. 岩矿测试), 2008, 27(2): 81
- [14] Walorczyk S. J Chromatogr A, 2008, 1208: 202
- [15] Abhilash P C, Jamil S, Singh N. J Chromatogr A, 2007, 1176: 43
- [16] Dong Z L, Yang C G, Xue D F, et al. Chinese Journal of Chromatography (董振霖, 杨春光, 薛大方, 等. 色谱), 2009, 27(1): 82
- [17] Kang Q H, Wu Y, Gao K Y, et al. Chinese Journal of Chromatography (康庆贺, 吴岩, 高凯扬, 等. 色谱), 2009, 27(2): 181
- [18] Saito K, Sjödin A, Sandau C D, et al. Chemosphere, 2004, 57: 373