

多介质环境样品中有机氯农药及其手性成分的分析方法*

王 伟^{1, 2} 李兴红^{* * 1} 陆 海² 王喜智^{1, 2} 王晓飞¹
于惠杰³ 徐晓白¹ 蒋湘宁²

(1 中国科学院生态环境研究中心, 环境化学与生态毒理学国家重点实验室, 北京, 100085

2 北京林业大学, 北京, 100083; 3 北京第二炮兵总医院中心实验室, 北京, 100088)

摘 要 建立了利用自装填的硫酸硅胶层析柱和商品化固相萃取 (SPE) 硅胶小柱净化, 结合非手性气相色谱和手性气相色谱对多介质环境样品中有机氯农药及其手性成分的分析方法. 在优化的条件下, 对土壤、浮尘、植物 (松针) 和动物 (蚯蚓) 样品中有机氯农药及其手性成分进行了分离检测, 获得的数据能够为确认环境样品中有机氯农药的来源提供非常有用的信息.

关键词 有机氯农药, 土壤, 浮尘, 松针, 蚯蚓.

由于环境样品中手性污染物的含量通常以痕量 超痕量存在, 复杂的基质往往干扰手性化合物的定性和定量分析, 给最终的结论带来较大的误差. 因此, 样品中对映体的检测对净化过程提出了较高的要求. 目前, 测定环境中手性有机氯农药对映体的方法一般采用柱色谱分离而后硫酸净化的方法, 但通常需要多次添加硫酸才能完全除去样品中的一些色素、脂肪、高分子及一些酸不稳定的干扰物. 多次反复的操作极易造成目标物的损失, 处理动、植物样本等复杂基质中干扰成分的过程更为繁琐^[1-2]. 最近, Li^[3]发展了一种利用中性氧化铝/硅胶/硫酸硅胶复合柱净化土壤中手性有机氯农药的方法, 但是不同批次吸附剂之间有较强的活性差异, 可能造成不同批次间净化效果的差异较大, 而且并不清楚这种方法对土壤样品以外的其它环境样品的净化效果.

本文建立了一种能适应各种环境基质 (土壤、浮尘、植物、动物) 中有机氯农药 (HCHs 和 DDTs) 及其手性成分 (α -HCH 和 α p'-DDT) 的净化和分离检测方法, 以期能适于大量环境样品中该类目标污染物的分离检测.

1 分析方法

选取我国北方一城市某公园内表层的土壤、道路旁的浮尘、白皮松松针 (树高 1.5m 处) 和蚯蚓 (赤子爱胜蚓) 等环境样品为代表进行方法的建立和验证. 土壤、浮尘、松针 (洗去表面颗粒物) 首先在实验室冷冻干燥, 然后置于冰箱内储存待用. 蚯蚓的保存主要参照文献 [4]. 蚯蚓首先在原生态土壤中放置 1—4 d, 在常温下置于湿润的滤纸上, 使它吐尽体内的泥土, 然后用蒸馏水清洗、冷冻、干燥、研磨, 置于冰箱内储存待用.

分别称量 5 g 土壤、浮尘和松针, 2 g 蚯蚓, 与适量 Na_2SO_4 充分研磨, 置于 250 ml 提取装置中, 于 65 °C 下连续索式抽提 24 h. 萃取溶剂为丙酮与正己烷的混合溶液 (1:1, V/V). 在萃取之前, 加入 2, 4, 5, 6-四氯-间二甲苯 (2, 4, 5, 6-TCMX) 作为代用标准来监测和补偿操作过程中的损失. 萃取液经旋转蒸发仪浓缩, 剩余残留物用正己烷溶解后进行硫酸硅胶柱净化. 硫酸硅胶柱用正己烷湿法装柱 (12.5 cm \times 1.5 cm ID), 层析柱自下而上分别填适量玻璃棉, 8 g 硫酸硅胶, 约 2 g 无水 Na_2SO_4 . 把浓缩后的剩余残留物转移至硫酸硅胶柱中, 用 50 ml 正己烷进行洗脱. 收集全部洗脱液, 浓缩至 0.5 ml 后再进行 SPE (LC-Si) 净化. LC-Si 小柱先用 5 ml 正己烷活化, 然后用 10 ml 正己烷洗脱, 收集全部洗脱液, 再经缓慢氮吹后定容至 0.1 ml, 进行下一步的定性定量分析.

有机氯农药浓度的测定采用 Agilent 6890 型气相色谱仪, 配 Ni^{63} 电子捕获检测器. 色谱柱为 DB-5 (30 m \times 0.25 mm \times 0.25 μm , 美国 Hewlett-Packard 公司). 进样口温度 230 °C, 检测器温度 300 °C. 升

2008 年 4 月 19 日收稿.

* 国家自然科学基金 (No 20607026) 项目. * * 通讯作者, E-mail khzpl@rcees.ac.cn

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

温程序为: 初温 100℃, 保持 2 min, 以 10℃·min⁻¹升至 160℃, 再以 4℃·min⁻¹升至 280℃, 保持 10 min. 不分流进样, 进样量为 1 μl, 载气为高纯氮气, 流速为 0.6 ml·min⁻¹. 为了保证数据的可靠性, 选择典型性样品在 Hewlett-Packard 6890 GC-5973 MSD 系统分析. 除了载气为氦气外, GC-MS 参数和 GC-μECD 一样. 定量分析选择离子检测 (SM) 方式. EI 电离方式, 离子源 EI 70 eV.

α-HCH 和 α,p'-DDT 手性对映体比值的测定采用 Agilent 6890 型气相色谱仪, 配 Ni⁶³ 电子捕获检测器 (GC-μECD, 美国 Agilent 公司). 色谱柱为 BGB-172 (30 m × 0.25 mm × 0.25 μm, 瑞士 Analytik AG 公司). 进样口温度 250℃, 检测器温度为 280℃. 升温程序为: 初温 90℃, 保持 1 min, 以 15℃·min⁻¹升至 140℃, 再以 2℃·min⁻¹升至 210℃, 保持 5 min, 然后以 20℃·min⁻¹升至 240℃, 保持 10 min. 不分流进样, 进样量为 2 μl, 载气为高纯氮气. α-HCH 和 α,p'-DDT 对映体在 BGB-172 手性柱上的流出顺序参考文献 [5].

2 净化条件的优化

一般说来, 土壤、浮尘和动、植物样品中含有大量色素和脂类物质, 会干扰后面的测定. 根据已有文献的报道^[6-7], 在样品前处理过程中, 采用硫酸涂制硅胶的方式解决了使用传统浓硫酸净化方法带来的操作程序繁杂和重复问题, 实验结果表明, 采用 8 g 硫酸硅胶, 一次性就可以很方便地完全去除 5 g 土壤、浮尘、松针和 2 g 蚯蚓中的色素和脂类等干扰物质. 流出曲线表明, 50 ml 正己烷可以完全将样品里的 α-HCH, β-HCH, γ-HCH, p,p'-DDE, p,p'-DDD, α,p'-DDT 和 p,p'-DDT 完全洗脱下来. 洗脱液浓缩后, 再通过 LC-S 固相萃取小柱进一步净化.

3 气相色谱载气流速优化

初步实验表明, 在 BGB-172 柱上, α,p'-DDT 比 α-HCH 的响应低很多, 响应因子相差近十倍. 因此, 在其它条件不变的情况下, 设定载气流速为 0.7 ml·min⁻¹, 1.2 ml·min⁻¹, 1.7 ml·min⁻¹ 和 2.2 ml·min⁻¹ 来讨论柱流速对分离和灵敏度的影响. 当柱流速为 1.7 ml·min⁻¹ 时, 两种手性农药均可以到达基线分离, 分离时间相对较短, 且 α,p'-DDT 对映体响应较高. 综合考虑分离度和灵敏度, 本实验选择流速为 1.7 ml·min⁻¹ 进行手性化合物的分离.

4 质量控制

所有样品在提取前均加入一定浓度的 2,4,5,6-TCMX, 以校正样品处理过程和分析时带来的误差. 每 10 个样品中插入一个全程空白实验. 以信噪比的 3 倍作为方法的检出限, 5 倍作为方法的定量限. 在 200 ng·g⁻¹ 的添加浓度水平上, α-HCH, β-HCH, γ-HCH, p,p'-DDE, p,p'-DDD, α,p'-DDT 和 p,p'-DDT 在土壤、浮尘、松针和蚯蚓中的五次加标回收率、相对标准偏差、检测限和定量限见表 1. 对手性对映体的检测, 用浓度为 10.0 ng·g⁻¹, 200.0 ng·g⁻¹ 的 α-HCH 和 50.0 ng·g⁻¹, 200 ng·g⁻¹ 的 α,p'-DDT 外消旋体标准溶液连续七次进样的平均 EF 值分别为 0.500 ± 0.002 和 0.501 ± 0.001, 这与外消旋体 α-HCH 和 α,p'-DDT 的理论值是一致的. 七次测定的相对标准偏差分别为 0.6% 和 1.3%, 这样好的重现性可以灵敏地测出 EF 值的变化. 在 EF 值检测前, 目标物首先通过常规的非手性色谱柱检测定量. 在确保该次检测中的色谱图上干扰峰较少, 基线较平稳的情况下再进行目标物的手性对映体 EF 值检测.

表 1 七种有机氯农药的平均回收率及相对标准偏差 (n = 5)

Table 1 The average recovery, relative standard deviation, LODs and LOQs of seven organochlorine pesticides (n = 5)

农药	α-HCH	β-HCH	γ-HCH	p,p'-DDE	p,p'-DDD	α,p'-DDT	p,p'-DDT
平均回收率 %	87.29	89.35	94.76	92.25	86.84	90.64	88.90
RSD %	3.2	2.9	5.6	7.1	4.7	3.9	6.3
LODs/ng·g ⁻¹	0.049	0.065	0.031	0.072	0.086	0.065	0.078
LOQ/ng·g ⁻¹	0.082	0.108	0.052	0.121	0.143	0.108	0.130

5 实际样品的测定

用上述方法在城区公园内采集上述四种环境基质, 对其中残留的有机氯农药进行检测分析. 该公园内七种有机氯农药的浓度见表 2, 手性 α -HCH 和 α, p' -DDT 的浓度和对映体分数见表 3. 实际样品中手性有机氯农药的色谱图如图 1 所示.

表 2 公园表层土壤、浮尘、松针和蚯蚓中有机氯农药的浓度 ($\text{ng} \cdot \text{g}^{-1}$)

Table 2 The concentration of organochlorine pesticides in surface soil, dust, needle and earth worm of the park ($\text{ng} \cdot \text{g}^{-1}$)

	α -HCH	β -HCH	γ -HCH	Σ HCHs	p, p' -DDE	p, p' -DDD	α, p' -DDT	p, p' -DDT	Σ DDTs
表层土壤	0.236	2.970	0.279	3.486	5.64	2.39	31.70	80.73	120.45
浮尘	0.457	1.655	0.543	2.655	129.88	2.00	40.85	76.17	248.90
松针	0.776	0.195	1.455	2.425	0.67	0.09	0.23	0.33	1.27
蚯蚓	0.592	4.652	0.841	6.085	1702.58	233.71	77.66	351.67	2365.62

表 3 环境样品中手性 α -HCH 和 α, p' -DDT 的浓度和对映体分数 (EF)

Table 3 The concentration and enantiomeric fraction (EF) of chiral α -HCH and α, p' -DDT in environmental samples

	α -HCH		α, p' -DDT	
	浓度/ $\text{ng} \cdot \text{g}^{-1}$	EF	浓度/ $\text{ng} \cdot \text{g}^{-1}$	EF
表层土壤	0.236	0.408	31.695	0.485
浮尘	0.457	0.486	40.847	0.496
松针	0.776	0.429	0.233	0.197
蚯蚓	0.592	0.319	77.622	0.0562

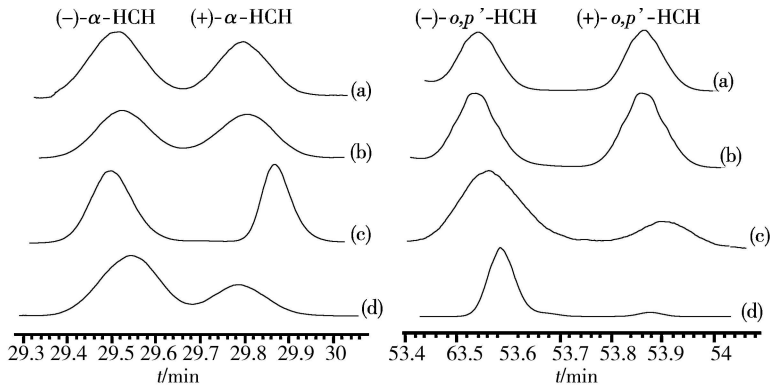


图 1 手性 α -HCH 和 α, p' -DDT 在环境样品中对映体的分离色谱图

(a) 表层土壤, (b) 浮尘, (c) 松针, (d) 蚯蚓

Fig 1 Enantiomeric chromatograms of chiral α -HCH and α, p' -DDT in environmental samples

由表 2 可以看到, 公园土壤中存在较高浓度的有机氯农药污染. 对 HCHs 来说, 由于 β -HCH 是工业六六六的最终主要降解产物, 高比例的 β -HCH 意味着环境中的六六六污染物已经经历了较长时间的降解. 在我们测定的实际样品中, 土壤、浮尘和蚯蚓中 β -HCH 在三种异构体中占了绝大多数 (分别为 85.2%, 62.3% 和 76.5%), 表明这三种环境介质中六六六来自于以前使用的残留. 不过, 在松针样品中, β -HCH 的百分含量仅仅为 8%, α -HCH 和 γ -HCH 是主要成分, 百分含量分别为 32.0% 和 60.0%. 由于松针中污染物含量通常可以用来指示大气的污染状况^[8, 9], 这就意味着大气中可能有新的工业六六六/林丹输入源.

对 DDTs 来说, 特征比值 $[\text{p}, \text{p}'\text{-DDT} / (\text{p}, \text{p}'\text{-DDD} + \text{p}, \text{p}'\text{-DDE})] < 1$ 表明无新的 DDT 输入, 而 > 1 表明有新的 DDT 输入; 另外, $(\alpha, p'\text{-DDT} / \text{p}, \text{p}'\text{-DDT})$ 比值用来判断环境中 DDT 污染是来自工业 DDT 的使用, 还是含有 DDT 不纯物的三氯杀满醇的使用, 在工业 DDT 中该比值通常在 0.2—0.3 之间, 在三氯杀满醇不纯物中通常 > 1.3 . 由于 $\alpha, p'\text{-DDT}$ 比 $\text{p}, \text{p}'\text{-DDT}$ 更容易降解, 工业 DDT 施于环境

之后, ($\alpha p'$ -DDT/ p, p' -DDT) 比值不可能 > 0.3 该比值大于 0.3 只能说明有三氯杀满醇不纯物的输入. 在实际样品的检测中, 浮尘、松针和蚯蚓中, $[p, p'$ -DDT / (p, p' -DDD + p, p' -DDE)] < 1 , 表层土壤中该比值 > 1 (10.05), 说明在表层土壤中有较新的 DDT 输入源存在. ($\alpha p'$ -DDT/ p, p' -DDT) 比值在土壤、浮尘和松针中均大于 0.3 表明这三种介质中有三氯杀满醇不纯物的输入.

除了 HCH 和 DDT 的特征比值外, α -HCH 和 $\alpha p'$ -DDT 的对映体特征也可以为判断这些污染物是新 老源或外来源 本地源提供非常有用的信息. 手性环境化学中一般使用对映体分数 (EF) 来描述手性化合物在环境中的行为. $EF = A_+ / (A_+ + A_-)$, A_+ 和 A_- 分别表示 (+) 和 (-) 对映体的峰面积 (假定它们有相同的响应因子). EF 的范围是 0 到 1.0 $EF = 0.5$ 表示外消旋体, 当 $EF \neq 0.5$ 时, 表示该化合物以非外消旋体的形式存在. 在工业品中, α -HCH 和 $\alpha p'$ -DDT 以外消旋体的形式存在, 对映体的 EF 值为 0.5 . 当 α -HCH 和 $\alpha p'$ -DDT 被施用于环境之后, 在水体、土壤中微生物的作用下很容易发生选择性降解, 导致 $EF \neq 0.5$. 所以用环境中化合物的 EF 值与 0.5 比较, 就可以了解污染物是过去使用后的残留还是新的输入. 在实际样品测定中, 土壤和蚯蚓均优先选择降解 (+)- α -HCH. 表层土壤中的 EF 值 (0.408) 与外消旋体比值 (0.5) 有较大的差异, 表明土壤中的 α -HCH 已经进行了长时间的降解; 而浮尘中 EF (0.486) 较接近外消旋比值, 松针中 EF (0.429) 大于土壤中的 EF (0.408), 说明大气及大气沉降样品中有外来的新的 HCH 输入, 这与特征比值关于土壤中无新的六六六来源, 而大气中 HCH 主要来自于外来大气的输入, 不是本地土壤挥发的判断一致.

对 $\alpha p'$ -DDT 而言, 土壤和浮尘中 EF 比值均接近外消旋比值, 结合前面特征比值关于来源的判断, 表明了在该区域的确存在着新的 DDT 输入源. 在松针及蚯蚓中均体现出 (+)- $\alpha p'$ -DDT 的优势降解, EF 值分别为 0.197 和 0.0562 . 由于与 0.5 相差较大, 这表明了 DDT 化合物在这两种介质中经历了较长时间的降解. 可以指示大气污染状况的松针的 EF 值与土壤中 EF 值相差较大, 可能表明了大气中 DDT 主要受外来大气的影 响, 当地土壤中 DDT 的挥发影响较少. 值得注意的是松针是植物样本, 其中所含的一些酶等活性物质会不会对手性化合物对映体选择性降解产生影响并不清楚, 故松针中目标污染物的 EF 值能否代替大气中的 EF 值需要进一步研究.

综上所述, 本文建立了一种净化效果好、操作简单的测定有机氯农药及其手性成分的分析方法. 方法的回收率和精密度反映了该方法的可靠性. 为系统地研究环境中有机氯化合物的环境行为和污染源等科学问题提供了可行性.

参 考 文 献

- [1] Moisey J, Fisk A T, Hobson K A et al., Hexachlorocyclohexane (HCH) Isomers and Chiral Signatures of α -HCH in the Arctic Marine Food Web of the Northwest Polynya [J]. *Environ. Sci. Technol.*, 2001, **35**: 1920—1927
- [2] Covaci A, Gheorghe A, Schepens P, Distribution of Organochlorine Pesticides Polychlorinated Biphenyls and α -HCH Enantiomers in Pork Tissues [J]. *Chemosphere.*, 2004, **56**: 757—766
- [3] Li J, Zhang G, Qi S H et al., Concentrations, Enantiomeric Compositions, and Sources of HCH, DDT and Chlordane in Soils from the Pearl River Delta, South China [J]. *Sci. Total Environ.*, 2006, **372**: 215—224
- [4] Matscheko N, Tysklind M, Witt C D et al., Application of Sewage Sludge to Arable Land—Soil Concentrations of Polychlorinated Biphenyl Ethers and Polychlorinated Dibenzop-dioxins, Dibenzofurans, and Biphenyls, and Their Accumulation in Earthworms [J]. *Environ. Toxicol. Chem.*, 2002, **21** (12): 2515—2525
- [5] Falconer R L, Bilenan T F, Szeto S Y, Chiral Pesticides in Soils of the Fraser Valley, British Columbia [J]. *Agric. Food. Chem.*, 1997, **45**: 1946—1951
- [6] Haned A, Leopold G, Ismail A et al., Enantioselective Determination of Chiral Toxaphene Congeners in Laying Hens and Eggs Using Multidimensional High-Resolution Gas Chromatography [J]. *Agric. Food. Chem.*, 2005, **53**: 7156—7164
- [7] Leone A, Samanata Falconer R, Emission of Chiral Organochlorine Pesticides from Agricultural Soils in the Combel Region of the U. S [J]. *Environ. Sci. Technol.*, 2001, **35**: 4592—4596
- [8] Xu D D, Zhong W K, Deng L L et al., Levels of Extractable Organohalogenes in Pine Needles in China [J]. *Environ. Sci. Technol.*, 2003, **37**: 1—6
- [9] Kylin H, Grimvall E, Ostman C, Environmental Monitoring of Polychlorinated Biphenyls Using Pine Needles as Passive Samplers [J]. *Environ. Sci. Technol.*, 1994, **28**: 1320—1324

DETERMINATION METHOD OF ORGANOCHLORINE PESTICIDES AND THEIR CHIRAL COMPONENTS IN ENVIRONMENTAL SAMPLES

WANG Wei^{1, 2} LI Xing-hong¹ LU Hai² WANG Xi-zhi^{1, 2} WANG Xiao-fei¹
YU Hui-jie³ XU Xiao-bai¹ JIANG Xiang-ning²

(1 State Key Laboratory of Environmental Chemistry and Ecotoxicology, Research Center of Eco-Environment Sciences, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100085, China; 2 Beijing Forestry University, Beijing 100083, China; 3 Beijing Second Artillery General Hospital Center Laboratory, Beijing 100088, China)

ABSTRACT

This paper developed an analytical method to determine the organochlorine pesticides as well as their chiral components using non-chiral/chiral gas chromatogram column. The cleanup procedures of samples were done through sulfuric acid silica gel and solid phase extraction silica column. Under optimized conditions, target components in soil, dust, needle and earth worm were determined effectively. It was helpful of this method for obtaining data which provided some information to identify/track the source of pollutants in the environment.

Keywords organochlorine pesticides; soil; dust; needle; earth worm.

沃特世推出 Xevo QTof质谱仪, 再次重新定义质谱

2009年2月9日沃特世公司推出沃特世 Xevo™ 四极杆飞行时间 (QTof) 质谱仪 (MS), 一种精确质量的质谱/质谱台式仪器, 灵敏的台式 QTof 系统。Xevo 质谱仪遵从 Engineered Simplicity™ (工程精简) 的设计理念, 集卓越的仪器性能和简便的操作于一身, 旨在变革实验室分析工作流程的每一步, 帮助科学家们更快捷、更精确地把数据转换成关键的商业信息。

Xevo QTof 质谱仪与沃特世 ACQUITY™ 超高效液相色谱系统 (UPLC) 的联用, 为科学家提供了具有独特 UPLC/MS/MS 功能的唯一商品化的质谱系统——一种新颖并注册专利的新型数据采集方法, 使您能以前所未有的速度“在最短时间内获取所有数据”, 以期从最少的样品中获取最多的信息。沃特世凭借 Xevo QTof 质谱仪所带来的 QTof 技术, 成功应对了实验室日益增长的管理需求。

1996年, 沃特世 QTof 技术的发明标志着沃特世公司在实验室样品的分析以及科学家从单台质谱仪/质谱仪分析中获得的信息量方面上向前跨越了一大步。以前需要花费数周时间才能完成的分析和数据解释, 现在只需花费几分钟即可完成。

随着 Xevo QTof 质谱仪的推出, 沃特世将智能工程和更为简洁且更高效的生产力带入了分析工作流程的四个步骤之中, 即制备、分析、解析和决策。

制备 样品检测之前, IntelliStart™ 技术将自动执行质量校准、系统检查、系统性能监测, 并向科学家们保证, 仪器当前正在其最佳性能状态下运转。

分析 Xevo QTof 质谱仪所具有的高效和全扫描精确质量的检测能力, 确保了产生高品质、信息量丰富、可重现的数据。

解析 虽然采集到的数据质量很关键, 但如果不能转化成有意义的信息, 数据本身是无法提高实验室生产力的。沃特世 MassLynx™ 信息学方案可以自动将最复杂的数据形象化, 并自动对其进行解析, 这一功能是前所未有的。

决策 MassLynx 应用管理软件在对清晰、易懂且可编辑的报告进行快速处理方面起着关键作用, 该报告在公司范围内予以分享, 从而让商业研究或者决策制定人员更加充满信心。

(本报讯)