

固相萃取- GC-MS 法检测环境中痕量农药类内分泌干扰物质

万 翊, 胡建英*, 邵兵 (北京大学城市与环境学系, 北京 100871)

摘要:以 $\lg K_{ow}$ 作为评价指标, 讨论了 C18 和高分子填充剂 (Oasis) 的固相萃取柱对不同物理化学性质农药的适用范围, 建立了一种能同时浓缩低极性到极高性农药类内分泌干扰物质的 SPE-GC-MS 方法. 研究农药为 DDT 及其代谢产物 (6 种)、六六六类 (3 种) 以及其他 9 种被怀疑具有内分泌干扰作用的农药, $\lg K_{ow}$ 分布在 0.48 到 6.51 之间. 研究表明, 在超声振荡条件下 C18 能够有效地浓缩低极性的 17 种对象物质, 回收率为 77% ~ 123%. Oasis 能很好地回收较高极性物质, 但 18 种对象农药无法被一种固相萃取柱同时浓缩. 本实验采用 C18 和 Oasis 串联的固相萃取法, 可同时检测对象物质, 回收率为 80% ~ 120%. 该方法应用于海河流域的环境调查中, 检测出了 DDT 及其代谢产物、六六六和其他 2 种农药.

关键词:固相萃取; 内分泌干扰物质; 农药; GC-MS; 辛醇与水的分配系数

中图分类号: X839.2 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2002)增刊-04-0079

Identification of Pesticides in Aquatic Environment by Solid Phase Extraction- GC-MS

Wan Yi, Hu Jianying, Shao Bing (Department of Urban and Environmental Sciences, Peking University, Beijing 100871, China)

Abstract: The applicability of the solid-phase extraction using C18 and polymeric sorbent Oasis were evaluated to concentrate trace pesticides with different physico-chemical properties using $\lg K_{ow}$ as indicator, and the SPE-GC-MS which can simultaneously analyze the pesticides (six DDT and its metabolites, three HCHs, and nine pesticides with endocrine disrupting effect) with a broad spectrum of polarities ($\lg K_{ow}$ range from 0.48 to 6.51) in environment. It was found that while C18 under sonication is applicable to the pesticides except for dimethoate, a pesticide with $\lg K_{ow}$ of 0.48, Oasis can efficiently recover the pesticides including dimethoate except for DDT and its metabolites. With the extraction using C18 followed by Oasis successfully recover all 18 objective pesticides, the SPE-GC-MS was used to analyze these pesticides in Haihe basin. Eleven pesticides including HCHs, Alachlor, NIP, DDT and its metabolites, were detected in the river sample, and in environmental investigation of Bohai, pesticides can be examined by using this method.

Keywords: solid-phase extraction; endocrine disrupting chemicals; pesticide; GC-MS; $\lg K_{ow}$

内分泌干扰物质和持久性有机污染物由于能在极低浓度下影响人类及生物体的健康, 有关这些物质的环境行为及风险评价已经成为目前环境领域的研究热点之一. 虽然许多先进国家已经停止生产和使用这类物质, 但是我国还在继续生产和使用如 DDT, PCP 等持久性的有潜在内分泌干扰作用的物质. 为了有效管理这些物质在我国的生产使用和评价可能造成的环境风险, 建立一种快速有效的监测方法是非常必要的.

环境中残留的微量农药类内分泌干扰物质

的富集、检测是上述工作的重要部分之一. 以 XAD^[5] 为吸附剂的富集方法比较传统, 其洗脱过程中需要索式提取的方法才能获得高回收率. 目前, 固相萃取法是水中痕量物质富集的主要方法之一, 常用的固相萃取柱填充材料有 C18、聚苯乙烯/二乙烯基苯共聚物 (PS/DVB) 及活性炭. 固相萃取柱应用于农药的富集已有

基金项目: 国家杰出青年科学基金项目 (49925103); 国家自然科学基金项目 (40024101)

作者简介: 万翊 (1981 ~), 男, 本科生, 主要从事环境化学研究.

* 通讯联系人

许多成功的先例,但是目前无法用一种固相柱同时浓缩从低极性到极高性的不同化学物质.

1 实验部分

选取我国生产和使用量较大(表 1)并被列入怀疑具有内分泌干扰作用物质名单的 18 种农药及其代谢产物为研究对象,系统研究了同时浓缩分析这类物质的 SPE-GC-MS 法,并将其应用于海河流域此类物质的浓度检测.

表 1 对象物质的生产量(2000 年)

Table 1 Annual outputs of objective pesticides(2000)

农药名称	生产产量/t		lg K_{ow}	RT ¹⁾ /min
	全国	天津		
Phorate	3076	900	3.73	18.39
Dimethoate	8294	-	0.48	19.18
Atrazine	4138	-	1.03	19.55
Methyl parathion	19613	-	2.78	23.50
Alachlor	78	-	2.99	24.00
Malathion	2860	-	2.93	26.55
Dicofol	3613	-	5.74	27.46
Parathion	2730	580	3.84	27.46
NIP	661	-	5.79	36.83
-HCH				18.60
-HCH	1246	694	3.40	19.75
-HCH				19.96
o,p'-DDE			6.51	33.06
4,4'-DDE				35.44
o,p'-DDD			5.39	38.11
4,4'-DDD				35.99
o,p'-DDT	6834	4868	5.92	38.23
4,4'-DDT				40.16

1) 气相色谱保留时间,条件见实验部分

1.1 试剂、标准品及材料

对象农药乐果(Dimethoate)、阿特拉津(Atrazine)、甲基对硫磷(Methyl Parathion)、甲草胺(Alachlor)、马拉硫磷(Malathion)、三氯杀螨醇(Dicofol)、除草醚(NIP)、对硫磷(Parathion)、甲拌磷(Phorate)、-HCH、o,p'-DDD、4,4'-DDD、o,p'-DDT、4,4'-DDT、o,p'-DDE、4,4'-DDE 各物质均购自 Chemservice 公司;乙氰、甲醇、二氯甲烷、乙酸乙酯都为 HPLC 级(Fisher 公司);纯水(电导率, $18.1 \mu\text{S} \cdot \text{cm}^{-1}$); Strata™ C-18-E 固相萃取柱(500mg/6mL); Waters OASIS HLB (500mg/6mL) 固相萃取柱.

1.2 仪器

Hewlett-Packard 5890(II) GC-5971A MSD, HP 化学工作站, HP7673A 自动进样器, EASY-pure UV 超纯水计(Fisher)公司, Varian SPS 24 固相萃取(SPE)真空装置, 昆山市超声仪器有限公司 KQ-600B 型超声波清洗器(40kHz).

1.3 样品的测定条件

色谱条件:进样口温度 250, 质谱温度: 280. 电子能量:70eV, 电子倍增电压:2000V. 柱头压:50kPa. 程序升温条件:50 以 10 /min 线形升温至 185, 保持 2min 后, 以 0.1 /min 升温至 186, 保持 2min 后, 以 5 /min 升温至 280. 色谱柱:HP-5 MS (30m \times 0.25mm \times 0.25 μm). 选用 SIM 模式定量测定, 进样量为 2 μL [2].

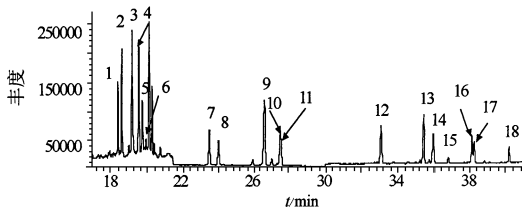
1.4 样品的固相萃取浓缩

把 10mL 甲醇 + 乙酸乙酯(1:1)、10mL 超纯水活化的 C-18 固相萃取柱和 10mL 二氯甲烷 + 乙氰(1:1)、10mL 超纯水活化的 Oasis HLB 用适配器连接, 添加有 1 $\mu\text{g}/\text{L}$ 的农药的 1L 自来水以大约 5mL $\cdot \text{min}^{-1}$ 的速度上样. 然后用 4mL 甲醇 + 乙酸乙酯(1:1)、4mL 二氯甲烷^[1,3] 溶剂洗脱 C-18 柱, 用 5mL 二氯甲烷 + 乙氰(1:1)、5mL 二氯甲烷^[4] 溶剂洗脱 Oasis HLB 柱, 洗脱完的 C-18 柱用 4mL 洗脱溶剂分别浸泡, 在超声器中超声 5min. 所有洗脱液浓缩并用氮气吹干后, 最后用正己烷溶解定容至 0.5mL, 用于 GC-MS 测定.

2 结果与讨论

2.1 C18, Oasis (HLB) 固相萃取对各对象物质的回收率

当使用 HLB 柱时(洗脱溶剂为二氯甲烷), Dimethoate, Atrazine, -HCH, Methyl parathion, Alachlor, Malathion, Dicofol (Parathion), 4,4'-DDD, NIP, o,p'-DDD 这 10 种物质的回收率较高, 但是极性非常低的 DDT, DDE 及 -HCH, -HCH 和 Phorate 的回收率出现偏低现象. 考虑到洗脱溶剂对回收率的影响, 在本实验中先用 5mL 二氯甲烷 + 乙氰(1:1)、再用 5mL 二氯甲烷洗脱, 其回收率表示见



1. Phorate; 2. -HCH; 3. Dimethoate; 4. Atrazine; 5. -HCH; 6. -HCH; 7. Methyl parathion; 8. Alachlor; 9. Malathion; 10. Dicofol; 11. Parathion; 12. o, p ¹DDE; 13. 4, 4 ¹DDE; 14. 4, 4 ¹DDD; 15. NIP; 16. o, p ¹DDD; 17. o, p ¹DDT; 18. 4, 4 ¹DDT

图 1 18 种农药标准添加实验的 GC-MS 色谱图

Fig. 1 GC-MS chromatogram of water spiked with eighteen kinds of pesticides

表 2. 发现 Phorate, -HCH 和 DDT, DDE 的回收率稍有改进, -HCH 的回收率得到了很好的改善. 另一方面, 当使用 C18 柱时(洗脱溶剂: 5mL 甲醇 + 乙酸乙酯(1:1)、5mL 正己烷), DDE 和 DDT 的回收率稍有改善, 但高极性的

表 2 不同萃取柱在不同条件下回收率比较

Table 2 Comparison of pesticide recovery under different SPE column

农药名称	回收率/ %		
	HLB ¹⁾	C18 ²⁾	HLB ³⁾
Phorate	25	14	44
-HCH	36	31	47
Dimethoate	178	17	159
Atrazine	109	121	117
-HCH	75	74	83
-HCH	38	74	83
Methyl parathion	108	76	120
Alachlor	88	96	110
Malathion	103	100	122
Dicofol (Parathion)	99	82	105
o, p ¹ DDE	35	59	50
4, 4 ¹ DDE	35	56	51
4, 4 ¹ DDD	72	106	80
NIP	85	97	118
o, p ¹ DDD	70	85	70
o, p ¹ DDT	26	85	70
4, 4 ¹ DDT	30	64	59

1) 5mL 二氯甲烷洗脱; 2) 5mL 甲醇 + 乙酸乙酯(1:1)、5mL 正己烷洗脱; 3) 5mL 二氯甲烷 + 乙腈(1:1)、5mL 二氯甲烷洗脱

Dimethoate 的回收率明显下降.

2.2 超声洗脱对回收率的提高

虽然选用不同的固相柱和洗脱溶剂, 可以改善某些物质的回收率, 但未能达到同时有效的回收本研究对象范围内的所有物质. 考虑到低极性物质回收率低是由于其吸附在萃取柱上, 而未能被溶剂洗脱的可能性, 尝试了固相柱在洗脱溶剂浸泡下超声振荡 5min 的实验. 经过超声振荡后, C18 和 HLB 对 DDE, DDT 和 -HCH 的回收率都有很大的改善, 特别是 C18 的回收率尤为明显(表 3).

表 3 C18 联用柱和 HLB 比较实验

Table 3 Comparison of SPE recovery between C18 and HLB under ultrasonic vibrations

农药名称	回收率/ %	
	C18	HLB
Phorate	44	59
-HCH	84	67
Dimethoate	17	88
Atrazine	112	95
-HCH	104	61
-HCH	120	61
Methyl parathion	123	88
Alachlor	115	81
Malathion	117	106
Dicofol (Parathion)	106	91
o, p ¹ DDE	77	64
4, 4 ¹ DDE	81	64
4, 4 ¹ DDD	100	87
NIP	123	95
o, p ¹ DDD	86	74
o, p ¹ DDT	86	74
4, 4 ¹ DDT	112	68

2.3 固相萃取柱联用

超声振荡虽然很好地改善了 C18 对低极性物质的回收率, 但 Dimethoate 的回收率依然较低. 考虑到此物质的极性较高(Ig K_{OW} = 0.48), 没有吸附在 C18 柱上. 因此, 采用了 2 柱联用的方法, 重新对 18 种物质的回收效果进行了评价. 图 1 表示了 18 种物质的 GC-MS 色谱图. Dimethoate 的回收率从 17% 提高到 123%.

最后值得注意的是 Phorate 的回收率只停留在 40% ~ 60% 之间. 由于 Phorate 是一种挥发性比较高的物质, 因此造成 Phorate 回收率低

的原因可能是由于吹干过程中挥发引起的。

3 应用

将以上方法应用于海河流域对象物质的测定.图 2 表示了永定新河水样的 GC-MS 色谱图.从图中可以发现,样品中检测出甲草胺、除草醚、DDT、DDD、DDE 9 种农药(浓度分别为 Alachlor 0.49×10^{-9} , o,p'-DDE 0.8×10^{-9} , p,p'-DDE 0.9×10^{-9} , o,p'-DDD 0.87×10^{-9} , NIP 0.54×10^{-9} , p,p'-DDD 0.65×10^{-9} , o,p'-DDT 0.1×10^{-9} , p,p'-DDT 0.05×10^{-9}).

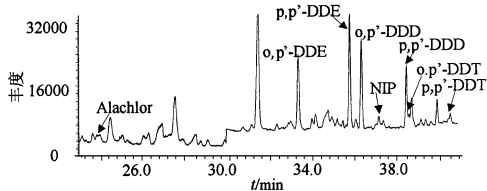


图 2 永定新河水样色谱图

Fig. 2 GC-MS chromatogram of river water from Yongdingxinhe

图 3 表示了南排河水样的色谱图.该点检测出了 α -HCH, β -HCH, DDT, DDD, DDE 等 8 种对象物质(浓度为: α -HCH 0.45×10^{-9} , β -HCH 0.57×10^{-9} , o,p'-DDE 0.19×10^{-9} , p,p'-DDE 0.24×10^{-9} , o,p'-DDD 0.26×10^{-9} , p,p'-DDD 0.21×10^{-9} , o,p'-DDT 0.04×10^{-9} , p,p'-DDT 0.02×10^{-9}),这些物质属于持久性有机污染物,在国际上已经禁止生产.我国应对这类物质提高重视,增加管理措施.

4 结论

(1) 本文建立了一种能同时检测环境中不同极性农药类内分泌干扰物质的 SPE-GC-MS

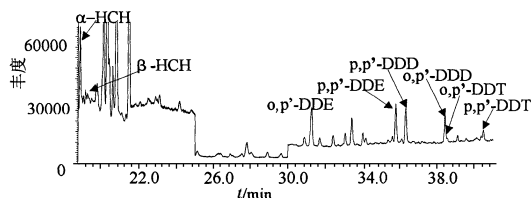


图 3 南排河水样色谱图

Fig. 3 GC-MS chromatogram of river water from Nanpaihe

法.

(2) 所调查的地区检测出了较高浓度的农药物质,当地政府应对此重视,并采取补救措施.

参考文献:

- 1 Samia El-Kabbany, M M Rashed, M A Zayed. Monitoring of the pesticide levels in some water supplies and agricultural land, in El-Haram, Giza. *Journal of Hazardous Materials*, 2000, **72**:11 ~ 21.
- 2 George J Soleas, Joe Yan, Kirby Hom, David M Goldgerg. Multiresidue analysis of seventeen pesticide in wine by gas chromatography with mass-selective detection. *Journal of chromatography A*, 2000, **882**:205 ~ 212.
- 3 House W A, D Leach, J A Long, P Cranwell, C Smith, L Bharwaj, A meharg, G Ryland, D O Orr, J Wright. Microorganic compounds in the Humber rivers. *The Science of the Total Environment*, 1997, 194 ~ 195; 357 ~ 371.
- 4 Silvia Lacorte, Ingrid Guiffard, Daniel Fraisse. Broad spectrum analysis of 109 priority compounds listed in the 76/464/CEE council directive using Solid-Phase Extraction and GC/EI/MS. *Anal. Chem.*, 2000, **72**:1430 ~ 1440.
- 5 John Moisey, Aaron T Fisk, Keith A Hobson, Ross J Norstrom. Hexachlorocyclohexane (HCH) Isomers and Chiral Signatures of α -HCH in the Arctic Marine Food Web of the Northwater Polynya, *Environmental Science & Technology*, 2001, **35**:1920 ~ 1926.