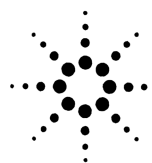


陈焯, 许秀艳, 于洪, 等. 土壤中痕量氯代苯胺的 MAE-SPME-GC/QQQ 测定[J]. 环境化学, 2015, 34(10): 1964-1968



安捷伦科技 (Agilent)

土壤中痕量氯代苯胺的 MAE-SPME-GC/QQQ 测定*

陈 焯^{1**} 许秀艳¹ 于 洪² 谭 丽¹ 吕怡兵¹

(1. 中国环境监测总站, 北京, 100012; 2. 乌鲁木齐市环境监测中心站, 乌鲁木齐, 830000)

摘 要 建立了微波辅助萃取-固相微萃取-气相色谱/三重四极质谱法(MAE-SPME-GC/QQQ)同时测定土壤中多种氯代苯胺的方法. 优化了多反应监测(MRM)的仪器条件, 研究了微波萃取温度、保持时间、溶剂体积对萃取效果的影响, 确定最佳实验条件为 4 g 土壤样品加入 30 mL 水, 在 100 ℃ 下微波萃取 5 min. 各目标物的线性范围为 0.005—20 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, 方法检出限为 0.003—0.4 $\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$. 测定 0.5 $\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$ 和 5 $\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$ 加标土壤样品, 回收率为 38.6%—116.4% 和 24.8%—82.0%, 相对标准偏差为 3.2%—27.7% 和 12.5%—22.7% ($n=7$). 方法综合了 MAE 快速高效、SPME 富集浓缩以及 GC/QQQ 抗干扰强的优势, 适合于非高有机质含量土壤中氯代苯胺类残留的快速痕量分析.

关键词 微波辅助萃取, 固相微萃取, 气相色谱/三重四极质谱联用, 土壤, 氯代苯胺.

氯代苯胺类物质(CAs)属于氯代芳香胺类化合物, 广泛用于杀虫剂、印染和制药等工业生产. CAs 可经皮肤、呼吸道和消化道进入人体, 对肝、肾等器官等均可造成损害, 被怀疑或证明具有致癌及致突变作用^[1]. 我国已将 CAs 列入“十二五”环境风险重点防控化学品名单^[2]. 除了通过工业生产活动直接进入环境外, CAs 是取代脲类等农药的常见中间代谢产物^[3,4]. 这类中间物在土壤中相对较稳定且毒性较大, 鉴于我国的农药使用量巨大, 土壤中的 CAs 残留问题不容忽视. 目前, 除本实验室先期开发了 SPME-GC/QQQ 测定土壤中 CAs 残留的方法外^[5], 尚无其他土壤介质中 CAs 测定的方法研究报道. 该方法简便快捷、灵敏度高, 但精密度稍逊.

微波萃取技术(MAE)是一种固体样品预处理方法, 具有处理量大、溶剂利用率高、溶剂消耗量少等优点. 微波萃取需选用带有极性的溶剂作为萃取溶剂. 水能强烈吸收微波能, 取代有机溶剂对土壤中的有机目标物进行微波萃取. 固相微萃取技术(SPME)需要的样品量小、无需有机溶剂、自动化程度高, 尤其适合于水相基体中有机物的萃取富集^[6-7].

采用水作为萃取溶剂, 可有效联合 MAE 和 SPME 两种样品预处理技术, 先利用 MAE 将待测物从土壤样品中萃取出来, 再利用 SPME 富集水相中的目标物, 省去了经典前处理方法中繁琐耗时的净化和浓缩步骤. 已有 MAE 与 SPME 联用测定土壤中水胺硫磷^[8]和扑草净^[9]的报道. 但未见 MAE-SPME 测定土壤中苯胺类物质的方法研究.

本研究采用 MAE 和 SPME 联用作为土壤中 CAs 测定的前处理方法, 优化了微波萃取温度、保持时间、溶剂体积条件. 仪器测定采用气相色谱/三重串联四极杆质谱的多反应监测模式, 有效减少了土壤样品的基体干扰, 提高了灵敏度. 与先期开发的 SPME 方法^[5]相比, MAE-SPME 测定土壤中 CAs 的方法精密度更优.

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

7890 GC-7000B MSD 气相色谱-三重四极杆串联质谱联用仪(美国 Agilent 公司); Combi PAL 多功能自动进样器(瑞士 CTC 公司); H-2050R 低温高速离心机(湖南湘仪); GH-100 回旋振荡器(北京国环高科自动化技术研究院); MARS 6 微波萃取仪(美国 CEM 公司).

85 μm 聚丙烯酸酯(PA)萃取纤维(美国 Supelco 公司).

2-氯苯胺(2-CA)、3-氯苯胺(3-CA)、2,3-二氯苯胺(2,3-DCA)、2,4-二氯苯胺(2,4-DCA)、2,5-二氯苯胺(2,5-DCA)、2,6-二氯苯胺(2,6-DCA)、3,4-二氯苯胺(3,4-DCA)(100 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, Dr. Ehrenstorfer GmbH), 4-氯苯胺(4-CA)(5 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, AccuStandard), 3,5-二氯苯胺(3,5-DCA)(100 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, AccuStandard), 2,3,4-三氯苯胺(2,3,4-TCA)、2,4,6-三氯苯胺

* 国家高技术研究发展计划(863 计划)(No.2013AA06A308)资助.

** 通讯联系人, 010-84943065, E-mail: chenye@cnemc.cn

(2,4,6-TCA)、3,4,5-三氯苯胺(3,4,5-TCA)、2,4,5-三氯苯胺(2,4,5-TCA)(纯品,Dr. Ehrenstorfer GmbH). 茚-d10(4000 μg·mL⁻¹, AccuStandard).

甲醇为农残级;氯化钠为分析纯(400 ℃焙烧 6 h).

1.2 MRM 条件参数

DB-5MS UI 色谱柱(30 m×0.25 mm×0.25 μm,美国 Agilent 公司).进样口温度 250 ℃;不分流进样;恒流模式,柱流量 1.0 mL·min⁻¹.程序升温方式为 60 ℃保持 1 min,以 20 ℃·min⁻¹ 速率升温到 120 ℃,以 5 ℃·min⁻¹ 速率升温到 220 ℃,以 20 ℃·min⁻¹ 速率升温到 300 ℃,并保持 1 min.碰撞气:氦气 2.25 mL·min⁻¹,氮气 1.5 mL·min⁻¹.EI 源;电离能量 70eV;多重反应监测方式(MRM);离子源温度 230 ℃;传输线温度 280 ℃;溶剂延迟 4 min.其他质谱参数见表 1.

1.3 土壤样品制备

空白土壤样品^[10]:土壤经风干、粗磨后,过孔径 0.84 mm(20 目)尼龙筛.过筛后的样品用于细磨,直至全部通过孔径 0.25mm(60 目)尼龙筛.装瓶,备用.

加标土壤样品:空白土壤中加入所需浓度的标准样品,于回旋振荡器 300 r·min⁻¹ 振摇 15 min.备用.

1.4 实验步骤

取 4 g 土壤样品放入微波萃取罐中,加入纯水作为萃取溶剂,于设定的温度和时间下微波萃取.萃取罐冷却后,全部样品转移至离心管中,于 9000 r·min⁻¹ 下离心 5 min,取出上层清液并定容至 40 mL.20 mL 玻璃样品瓶中加入氯化钠,再加入 8 mL 定容后的液体样品及内标.采用顶空固相微萃取模式,样品于设定温度下萃取一定时间后,纤维头迅速插入 GC 进样口解吸.而后,纤维头于 280 ℃氮气保护下老化 10 min.

2 结果与讨论

2.1 多反应监测(MRM)条件的选择

优化质谱参数前,应先确定色谱条件,同时确定目标物的保留时间.对于 3-CA 和 4-CA、2,4-DCA 和 2,5-DCA 无法基线分离的两组物质,分别以总量计算.此外,为使目标物的响应最大化,需要对主要的质谱参数进行优化.首先,对目标物进行一级质谱全扫描(Full Scan),得到各化合物的特征碎片离子,确定丰度高、质量数大的碎片离子作为母离子.采用子离子扫描方式(Product Scan),对母离子进行二级质谱全扫描.比较不同碰撞能量下(CID@ 5 eV—60 eV)得到的子离子碎片,选择丰度高、质量数大的离子作为子离子,并记录此时的碰撞电压.最后,将选择的离子对、碰撞电压信息编辑成多反应监测(MRM)方法.

优化后的 MRM 方法,每个物质对应有两对离子对,其中一对作为定量离子,另一对作为定性离子,具体的质谱参数见表 1.

表 1 主要 MRM 参数

序号	化合物	离子对	碰撞电 压/eV	RT/min	序号	化合物	离子对	碰撞电 压/eV	RT/min
1	2-CA	127->65* 127->92	20 10	5.66	7	2,4,6-TCA	195->124* 195->88	20 35	9.94
2	3-CA,4-CA	127->65* 127->100	20 15	6.55	8	3,4-DCA	161->99* 163->90	20 20	10.33
3	2,6-DCA	161->90* 163->90	20 20	7.14	-	茚-d10	163->161* 163->159	15 25	11.36
4	2,4-DCA,2,5-DCA	161->99* 161->63	20 30	8.54	9	2,4,5-TCA	195->124* 197->135	20 25	12.50
5	2,3-DCA	161->90* 163->90	20 20	8.89	10	2,3,4-TCA	195->124* 197->124	20 20	13.05
6	3,5-DCA	161->99* 161->90	20 20	9.80	11	3,4,5-TCA	195->124* 197->124	20 20	14.73

* 定量离子

2.2 SPME 条件

采用本实验室前期研究结果^[11]:PA 纤维头,300 g·L⁻¹ 氯化钠,80 ℃萃取 30 min,解吸 1 min.

2.3 MAE 条件优化

以纯水作为萃取溶剂对土壤中的氯代苯胺类残留进行微波萃取,经固相萃取纤维头富集后于 GC/QQQ 测定.通过比较目标物定量离子对的峰面积响应来优化微波萃取条件.其中,微波功率、萃取温度、保持时间和萃取溶剂是微波萃取的关键条件参数.实验所用的微波萃取仪,功率随萃取罐温度变化自动实时调节,无法人工设置固定的功率,故不再对微波功率进行讨论.

萃取温度 在萃取时间 20min,加水量 20 mL 条件下,考察了 60 ℃—120 ℃范围时,土壤中各目标物的微波萃取情况(图 1).60 ℃和 100 ℃萃取温度时,各目标物的响应大致相当,但对于低响应组分,100 ℃时的萃取效果略优于 60 ℃.120 ℃时,目标物响应迅速降低,可能由目标物在高温下的分解或挥发造成.因此,最终选取 100 ℃作为微波萃取温度.各组分响应随温度变化十分明显,说明温度是影响微波萃取效果的关键参数.

保持时间 在萃取温度 100 ℃,加水量 20 mL 条件下,比较了不同保持时间对微波萃取效果的影响(图 1).在 5—30 min 范围内,各组分响应应保持时间变化不显著.萃取时间为 5 min 时,各目标物的响应最高.随时间延长,各组分响应缓慢降低.因此,选取 5 min 为微波萃取的保持时间.

萃取溶剂用量 在萃取温度 100 ℃,萃取时间 5 min 条件下,考察了不同加水量对土壤中各组分微波萃取效果的影响(图 1).在 10—30 mL 范围内,各组分响应随溶剂体积增加缓慢提高,但变化趋势不十分显著.考虑到加水量为 30 mL 时,目标物响应最高,因此选择 30 mL 为萃取溶剂用量.

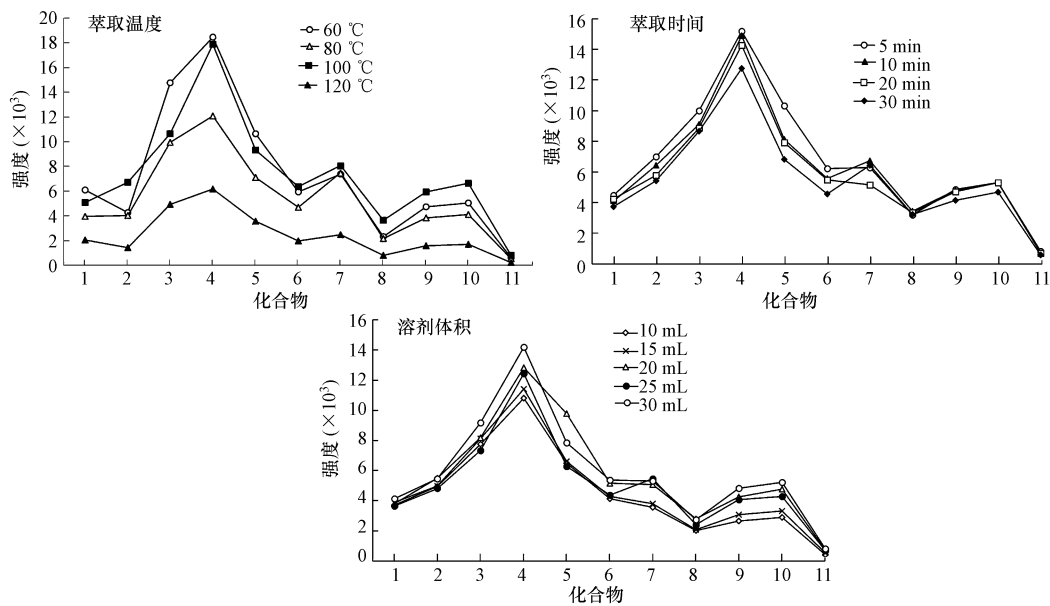


图 1 微波萃取温度、时间和溶剂体积对目标物萃取效果的影响

2.4 MAE 萃取效率

目标物含量为 0.5 μg·L⁻¹的水溶液和目标物含量为 5 ng·g⁻¹的加标土壤样品(经微波萃取后定容得到 0.5 μg·L⁻¹的萃取溶液),同时经 MAE-SPME 处理后进样测定,结果如图 2 所示.水溶液中目标物的测定浓度与理论加标值更为接近(除 2-CA 外),说明本方法条件下微波不会导致目标物出现明显分解的情况.

土壤中目标物的测定浓度比理论加标值偏低较多(除 2-CA 外),尤其是 2,4,6-TCA 的偏差最为明显.土壤的基体效应可能对目标物的回收率产生严重负面影响.同时,介电常数不同,物质吸收微波的能力亦不同,这可能是各组分的 MAE 提取效率差异较大的原因.

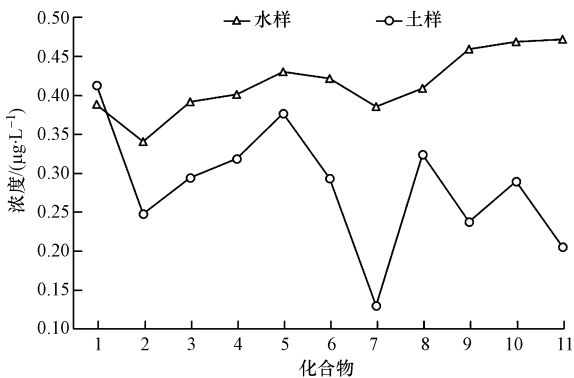


图 2 加标水样与加标土样分别经 MAE-SPME 测定的结果比较

2.5 方法评价

以纯水为基质绘制校准曲线.各组分的线性范围、相关系数及方法检出限如表 2 所示.目标组分的线性范围为 0.005—20 μg·L⁻¹,方法检出限为 0.003—0.4 ng·g⁻¹.在优化的实验条件下,测定目标物含量为 0.5 ng·g⁻¹和 5 ng·g⁻¹(经微波萃取后定容得到 0.05 μg·L⁻¹和 0.5 μg·L⁻¹的萃取溶液)的加标土壤样品,考察方法的精密度和准确度(表 2).目标组分的回收率分别在 38.6%—116.4%和 24.8%—81.2%范围,相对标准偏差在 3.2%—27.7%和 12.3%—22.7%范围.

表 2 目标物的线性范围、相关系数、方法检出限以及加标精密密度($n=7$)

化合物	线性范围/ ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	相关系数 r^2	方法检出限/ ($\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$)	0.5 $\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$ 加标土壤样品		5 $\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$ 加标土壤样品	
				回收率/%	精密密度/%	回收率/%	精密密度%
2-CA	0.005—20	0.9998	0.04	65.0	3.6	81.2	16.5
3-CA、4-CA	0.01—20	0.9991	0.08	60.5	7.8	49.9	13.5
2,6-DCA	0.005—20	0.9998	0.03	38.6	3.4	57.6	12.3
2,4-DCA、2,5-DCA	0.02—20	0.9992	0.2	71.9	14.4	63.4	14.2
2,3-DCA	0.05—20	0.9987	0.003	56.2	3.2	75.3	14.2
3,5-DCA	0.005—20	0.9964	0.04	53.5	4.3	59.1	12.5
2,4,6-TCA	0.05—20	0.9988	0.3	61.9	27.7	24.8	22.7
3,4-DCA	0.05—20	0.9963	0.4	116.4	21.8	65.6	13.4
2,4,5-TCA	0.05—20	0.9960	0.3	66.8	19.2	47.2	15.3
2,3,4-TCA	0.05—20	0.9954	0.3	76.0	21.2	57.3	15.3
3,4,5-TCA	0.05—20	0.9938	0.3	51.9	3.6	41.8	14.0

2.6 实际样品分析

应用优化后的方法对化工企业周边表层土壤(S1、S2)、底泥样品(S3)和耕作用地表层土壤(S4)进行了分析,未检出目标 CAs 残留.对样品进行加标测定,加标浓度为 5 $\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$,结果见表 3.样品 S1、S2 的加标回收率为 20.6%—82.1%,精密密度为 2.5%—17.9%;而样品 S3、S4 的加标回收率为 4.3%—46.4%,精密密度为 2.7%—14.6%.总体来看,不同类型土壤的测试精密密度良好,说明本方法的测试稳定较好.而加标回收情况差异很大,可能与微波萃取效率、土壤样品及其吸附机理的复杂性等多种因素有关.而土壤在成分及结构组成上的多样性,造成污染物在其中的存在形态、迁移转化十分复杂.

土壤对污染物的吸附可分为粘土矿物吸附和有机质吸附.极性小的有机物很难与土壤矿物发生作用,因此粘土矿物对目标物的吸附量微不足道,有机质吸附是目标物的主要吸附途径^[12].有机质含量多,吸附位点随之增加,土壤对目标物的吸附作用进而增强^[12-13];样品 S3、S4 中有机质含量可能更多,对 CAs 的吸附作用更强,因此其加标回收率较样品 S1、S2 低.土壤中的可溶性有机质会提高有机污染物在水中的溶解度^[13].底泥样品 S3 中可能含有更多的可溶性有机质,但其加标回收率反而偏低,这可能是土壤 pH 造成的影响^[14].CAs 的氮原子上含有孤对电子,当土壤 pH 降低时,可能质子化成为阳离子.一方面 CAs 可与土壤中部分可交换阳离子进行交换;另一方面有利于 CAs 与有机质及粘土矿物形成分子间氢键,增强了吸附的可能.

此外,本方法在条件优化阶段使用的空白土壤为非高有机质含量的实际土壤,在此基础上优化得到的实验条件可能更适用于此类样品中 CAs 的测定.建议对于如耕作等高有机质含量的土壤样品,可采用相同类型的空白土壤作为基质进行条件优化,以确定最终的实验条件.

表 3 实际样品加标结果(%, $n=3$)

化合物	样品 S1		样品 S2		样品 S3		样品 S4	
	回收率	精密密度	回收率	精密密度	回收率	精密密度	回收率	精密密度
2-CA	82.1	13.3	71.4	9.2	46.4	7.4	27.7	2.7
3-CA+4-CA	70.5	8.2	44.0	17.9	12.3	14.3	6.3	6.4
2,6-DCA	67.8	13.3	54.4	9.1	45.2	9.0	31.2	4.2
2,4-DCA+2,5-DCA	67.9	13.0	50.1	8.1	33.4	5.7	20.4	7.9
2,3-DCA	77.3	12.8	59.4	6.7	40.2	8.7	25.7	8.2
3,5-DCA	58.8	11.0	38.7	3.7	17.6	12.6	10.3	9.1
2,4,6-TCA	38.3	12.7	21.5	12.6	14.8	12.4	8.0	11.7
3,4-DCA	55.9	10.8	33.2	4.6	9.8	13.5	5.0	9.0
2,4,5-TCA	42.7	12.8	25.3	4.8	15.9	10.7	8.6	4.4
2,3,4-TCA	46.8	10.6	29.0	2.5	17.9	13.5	9.8	7.5
3,4,5-TCA	38.5	3.6	20.6	10.9	7.8	14.6	4.3	9.9

2.7 方法比较

本实验室先期开发的 SPME GC/QQQ 同时测定土壤中 CAs 残留的测定方法,具体条件为^[5]:85 μm PA 萃取头,顶空 SPME 模式,8 g 土壤中加入 4 mL 纯水,80 $^{\circ}\text{C}$ 萃取 40 min.该方法可适用的样品类型多,但精密密度稍差.与 SPME 方法相比,MAE-SPME 的操作步骤相对较多,对高有机质含量样品的测定准确度较差,但方法的测试精密密度更优.相对土壤中有

机物测定的经典方法,上述两种土壤中 CAs 残留的分析方法简便快捷、分析时间短、自动化程度高,但各有利弊,在实际测定中可作为相互补充.

3 结论

建立了 MAE-SPME-GC/QQQ 同时测定土壤中多种氯代苯胺类残留的分析方法.4 g 土壤样品加入 30 mL 纯水,于 100 °C 微波萃取 5 min,冷却离心后定容至 40 mL.8 mL 液体样品,加入 2.4 g 氯化钠及内标,85 μm PA 萃取头,80 °C 萃取 30 min,于进样口解吸 1 min,MRM 模式下测定.目标组分的线性范围为 0.005—20 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$,方法检出限为 0.003—0.4 $\text{ng} \cdot \text{g}^{-1}$.化工企业周边表层实际土壤样品的加标回收率和精密度分别为 20.6%—82.1% 和 2.5%—17.9%.本方法可应用于非高有机质含量的土壤样品中痕量 CAs 的快速分析.

参 考 文 献

- [1] 国家环境保护总局编委会.水和废水监测分析方法.第四版增补版.北京:中国环境科学出版社,2006:598-601
- [2] 环境保护部.化学品环境风险防控“十二五”规划. http://www.gov.cn/gongbao/content/2013/content_2412291.htm. [2013-02-07]
- [3] 任华峰,李淑芹,刘志培.氯代苯胺类化合物微生物降解的研究进展[J].微生物学通报,2004,31(3):120-125
- [4] 蒋新,周建民,Muller P.土壤中 3,4-二氯苯胺降解动力学及其生态毒性[J].环境科学,2000,21(5):94-96
- [5] 陈烨,许秀艳,王超,等.固相微萃取-气相色谱/三重四极质谱法测定土壤中氯代苯胺类残留[J].分析化学,2015,43(7):1009-1015
- [6] 池缔萍,钟仕花,郭翔宇.自动固相微萃取-气相色谱法分析无公害海水养殖用水的多氯联苯[J].环境化学,2010,29(4):749-753
- [7] 王翊如,王小如, Lee F S C.固相微萃取技术在估算多环芳烃的辛醇-水分配系数中的应用[J].色谱,1999,17(5):424-426
- [8] 杨云,栾伟,罗学军,等.微波辅助萃取-固相微萃取联用气相色谱-质谱法测定土壤中的扑草净[J].分析化学,2004,32(6):775-778
- [9] 杨云,李攻科.土壤中痕量水胺硫磷的微波辅助萃取-固相微萃取-GC-MS 法测定[J].分析测试学报,2003,22(4):13-16
- [10] 中华人民共和国环境保护部. HJ/T 166-2004 土壤环境监测技术规范[S].北京,2004
- [11] 陈烨,王超,许秀艳,等.顶空固相微萃取-气相色谱法快速测定水中氯代苯胺类残留[J].分析测试学报,2014,33(9):82-87
- [12] 方晓航,仇荣亮.农药在土壤环境中的行为研究[J].土壤与环境,2002,11(1):94-97
- [13] 党志,黄伟林,肖保华.环境有机地球化学:有机污染物—土壤/沉积物吸附作用研究回顾[J].矿物岩石地球化学通报,1999,18(3):194-199
- [14] 刘维屏,Gessa C. 利谷隆在土壤中的吸附过程和机理[J].环境科学,1995,16(1):16-18