

DOI 10.3724/SP.J.1096.2010.00968

加速溶剂萃取-液相色谱-串联质谱法测定 近岸及河口沉积物中的拟除虫菊酯农药

杨琳¹ 温裕云² 弓振斌*^{2,3}¹(福建省海洋环境与渔业资源监测中心, 福州 350003)²(厦门大学海洋与环境学院², 近海海洋环境科学国家重点实验室³, 厦门 361005)

摘要 建立了近岸及河口沉积物中拟除虫菊酯农药的加速溶剂萃取、液相色谱-串联质谱测定方法。以正己烷-丙酮(1:1, V/V)为萃取剂, 在萃取温度 60°C、压力 10.3 MPa 下对目标农药进行静态萃取 5 min, 合并两次萃取的目标农药后浓缩; 使用 XDB-C₁₈ 色谱柱、甲醇和 2.5 mmol/L 乙酸铵的水溶液为流动相进行分离; ESI 正离子源、三重串联质谱及多反应监测模式(MRM)下进行测定。本方法的检出限(3 σ)为 0.08~0.8 μ g/kg, 定量限(10 σ)为 0.5~2.5 μ g/kg, 样品加标回收率在 67.9%~97.3% 之间; 相对标准偏差(RSD)为 1.07%~8.61% (20.0 μ g/kg, $n=8$), 并应用本方法测定福建罗源湾沉积物样品中拟除虫菊酯类农药。本方法的灵敏度高, 前处理简单、快速。

关键词 拟除虫菊酯; 近岸及河口沉积物; 液相色谱; 串联质谱; 加速溶剂萃取

1 引言

拟除虫菊酯(Pyrethroid)农药是一类重要的合成杀虫剂, 具有高效、广谱、低毒和生物可降解等特性, 广泛应用于谷物、蔬菜、茶叶、棉花等农作物的病虫害防治^[1]以及渔业养殖中寄生虫、敌害生物的灭杀^[2]。但拟除虫菊酯类农药的某些品种有致癌、致畸、致突变作用^[3,4], 对鱼类等水生生物具有高毒性^[5-7]。直接或间接^[7]进入水体的拟除虫菊酯农药难溶于水, 易被颗粒物或油滴吸附并沉降在沉积物中^[8], 沉积物中的农药降解速度相对比较缓慢, 对底栖生物的栖息环境造成危害。因此, 建立近岸及河口沉积物中拟除虫菊酯类农药测定方法对环境监测和海洋化学研究具有重要意义。

拟除虫菊酯类农药测定方法的研究较多集中在蔬菜、谷物、茶叶等^[9], 而土壤^[10,11]、沉积物^[2,8,12-16]等环境样品较少。使用的方法主要为气相色谱法(GC-ECD)^[2,12,14,16]、气相色谱-质谱(GC-MS)^[10,11,13]和液相色谱-质谱(LC-MS)^[17]等。虽然 GC-ECD 灵敏度高, 但对样品前处理的要求严格, 样品基质干扰使分析结果常出现假阳性; LC-MS 对拟除虫菊酯农药测定具有样品处理简单、灵敏度高、准确等优点, 但对沉积物样品测定尚未见报道。本研究采用加速溶剂萃取近岸及河口沉积物样品, 以 LC-MS 快速、准确测定近岸及河口沉积物中拟除虫菊酯农药。

2 实验部分

2.1 仪器与试剂

Agilent 1200SL 高分离度快速液相色谱仪, Agilent 6410 串联四极杆质谱仪, 配电喷雾离子源(美国 Agilent 公司); MasHunter 工作站; ASE-100 型加速溶剂萃取仪(美国 DIONEX 公司); 配 34 mL 萃取池; TurboVap II 自动浓缩工作站(美国 Caliper 公司); MilliQ 高纯水发生装置(美国 Millipore 公司)。

甲醇、乙腈、丙酮、正己烷(色谱纯, 美国 Merck 公司); 氟罗里硅土(0.18~0.154 mm 粒径, 农残级, Tedia 公司), 在 450 °C 的马弗炉中煅烧 4 h, 然后放入干燥器中冷却至室温, 备用; 醋酸、醋酸铵(色谱纯, Tedia 公司); 高纯水(Millipore 超纯水器自制); 0.22 μ m 有机相微孔过滤膜。

拟除虫菊酯标准品: 胺菊酯、氟氰戊菊酯、 β -氟氯氰菊酯、甲氰菊酯、高效氯氟氰菊酯、 α -氯氟菊酯、

2009-11-08 收稿; 2010-02-03 接受

本文系福建省自然科学基金重点项目(Na B0220001)资助

* E-mail: zhong@xmu.edu.cn

溴氰菊酯、氰戊菊酯、生物吡啶菊酯、氟胺氰菊酯、氯菊酯及联苯菊酯均购自 Dr Ehrenstorfer GmbH 公司, 纯度均大于 95%。

单标准储备溶液为 1000 μg/L 的甲醇溶液, 贮存于 -18 °C 冰箱中; 混合标准溶液为 20 μg/L 的甲醇/水 (80:20, V/V) 溶液, 贮存于 4 °C 冰箱中; 以甲醇/水 (80:20, V/V) 溶液配成所需浓度, 现用现配。

2.2 样品前处理

沉积物样品的采集按照 GB 17378.3-2007^[17] 中样品采集、贮存与运输的要求进行, 表层沉积物采用不锈钢材质抓斗式采样器采集, 采集的样品置于陶瓷盘中, 混合均匀, 装至预先处理的 2.5 L 棕色广口瓶运回实验室后, 样品阴干, 阴干后用玛瑙研钵磨细, 过 0.18 mm 孔径筛, 保存于干净的磨口瓶中, 密封备用。

准确称取 5.0 g 土壤样品, 1.0 g 氟罗里硅土, 混匀后装入 34 mL 的萃取池中进行萃取。萃取溶剂为正己烷-丙酮 (1:1, V/V); 提取温度 60 °C; 系统压力 10.3 MPa; 预加热时间 5 min, 静态萃取时间 5 min, 循环 2 次; 冲洗体积为 60% 萃取池体积。最后用氮气吹扫 100 s 收集萃取液于 250 mL 收集瓶中。萃取后萃取液转入自动浓缩仪浓缩瓶中, 用氮气浓缩到约 0.2~0.5 mL, 加入约 15 mL 甲醇 (同时淋洗浓缩瓶壁), 再浓缩到约 0.2 mL, 用甲醇定容至 1.0 mL, 过 0.22 μm 滤膜, 待上机测定。

2.3 液相色谱-质谱分析条件

Agilent ZORBAX Eclipse XDB-C₁₈ 色谱柱 (100 mm × 3.0 mm, 1.8 μm), 柱温 40 °C; 流动相 A 为甲醇, B 为 2.5 mmol/L 乙酸铵溶液, 流速 0.4 mL/min; 流动相梯度洗脱程序为: 0~9.5 min, 80% A; 9.5~12.0 min, 80%~90% A, 整个分析流程用时 15.5 min, 进样量 5.0 μL。

ESI 源为正离子模式; 干燥气 (氮气) 温度 350 °C, 流速 8.0 L/min; 雾化气 (氮气) 压力 275.8 kPa; 毛细管电压 4 kV; 数据采集方式为多反应监测模式 (MRM); 各组分保留时间、碎裂电压、多反应监测模式条件见表 1。

表 1 12 种拟除虫菊酯优化后的质谱分析条件

Table 1 Optimized LC-MS/MS operating conditions for 12 pesticides

序号 No.	农药 Pesticides	保留时间 <i>t_R</i> (min)	分子量 <i>M_w</i>	监测离子对 Monitoring ion pair (<i>m/z</i>)	碎裂电压 Fragmentor voltage (V)	碰撞能量 Collision energy (V)
1	胺菊酯 Tetramethrin	4.2/4.5	331.2	332.2 ⁺ 135.1 ⁻ 332.2 ⁺ 164.1 ⁻	100	14
2	氟氰戊菊酯 Flucythrinate	6.2	451.5	469.2 ⁺ 199.2 ⁻ 469.2 ⁺ 181.2 ⁻	120	16
3	β-氯氟氰菊酯 β-Cyfluthrin	7.3/7.8	434.3	451.2 ⁺ 191.2 ⁻ 451.2 ⁺ 226.2 ⁻	100	9
4	甲氰菊酯 Fenpropathrin	7.4	349.2	350.2 ⁺ 125.2 ⁻ 350.2 ⁺ 97.2 ⁻	100	18
5	氯氟氰菊酯 λ-Cyhalothrin	8.0	449.2	467.2 ⁺ 225.2 ⁻ 467.2 ⁺ 208.2 ⁻	120	12
6	α-氯氟菊酯 α-Cypermethrin	8.9	415.1	433.1 ⁺ 191.1 ⁻ 433.1 ⁺ 112.1 ⁻	100	13
7	溴氰菊酯 Deltamethrin	9.5	503.4	523.1 ⁺ 281.1 ⁻ 523.1 ⁺ 199.2 ⁻	120	10
8	氰戊菊酯 Phenvalerate	10.5/10.8	419.9	437.2 ⁺ 167.2 ⁻ 437.2 ⁺ 208.2 ⁻	100	10
9	生物吡啶菊酯 Bioresmethrin	12.5	338.2	339.2 ⁺ 171.2 ⁻ 339.2 ⁺ 143.2 ⁻	120	15
10	氟胺氰菊酯 Tau-fluvalinate	12.9	502.9	503.2 ⁺ 208.2 ⁻ 503.2 ⁺ 181.2 ⁻	100	8
11	氯菊酯 Permethrin	14.0	390.1	408.1 ⁺ 183.1 ⁻ 408.1 ⁺ 113.1 ⁻	100	12
12	联苯菊酯 Bifenthrin	15.0	422.1	440.2 ⁺ 181.2 ⁻ 440.2 ⁺ 166.2 ⁻	100	22

* : 定量离子 (Quantitation ion)。

3 结果与讨论

3.1 色谱分离条件选择

实验考察了乙腈/水、乙腈/0.1% 甲酸水溶液、甲醇/水、甲醇/0.1% 甲酸水溶液、甲醇/乙酸铵水溶

液等作流动相时的分离情况。使用以上流动相及梯度洗脱程序均能将待测组分分离。考虑到流动相组成对农药组分在 ESI 源中离子化效率、形成离子稳定性等的影响,选择甲醇 /2.5 mmol/L 乙酸铵水溶液为流动相并采用梯度洗脱程序。在此条件下,虽然不能使所有组分完全达到基线分离,但不影响各组分在质谱上的分析,并能使整个色谱分离时间缩短为 15.5 min。

图 1 为优化实验条件下 12 种农药的色谱图。除胺菊酯、 β -氟氯氰菊酯、氰戊菊酯因同分异构体出现 2 个峰外,其它组分均为单一色谱峰。

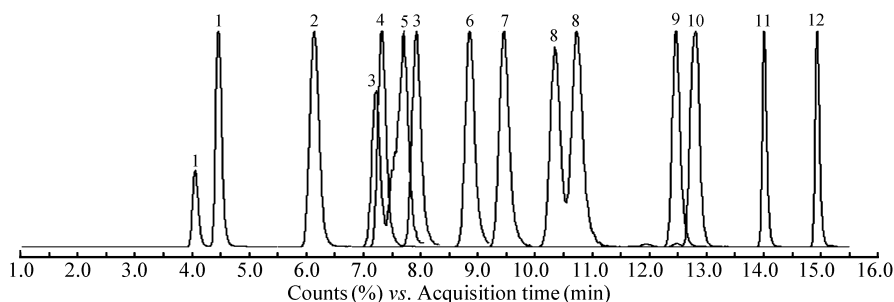


图 1 拟除虫菊酯混标的 MRM 色谱图 (峰的编号与表 1 中序号对应)

Fig 1 MRM chromatogram of 12 pesticides (Numbers are corresponding to the No. in Table 1)

3.2 质谱测定条件选择

考察了甲醇 /水、乙腈 /水为流动相时,ESI 正模式、ESI 负模式下菊酯组分在质谱仪上的响应。结果表明,ESI 正模式时所有组分均有很强响应;而 ESI 负模式时所有组分均无明显响应,因此后续的实验选用 ESI 正模式。

流动相的组成对待测农药离子化效率影响显著。使用甲醇 /水或乙腈 /水为流动相(不添加任何改性剂, additives or modifiers)时,各待测组分经 ESI 源形成的加合物离子主要为 $[M + H]^+$ 、 $[M + NH_4]^+$ 、 $[M + Na]^+$ 、 $[M + K]^+$,其中以 $[M + Na]^+$ 的丰度最高;但以 $[M + Na]^+$ 为母离子进行碰撞诱导解离时,大多组分都无法得到稳定且丰度较高的子离子,所以不能选用 $[M + Na]^+$ 为母离子作二级质谱,这与文献 [16] 报道的结果相同。当使用甲醇 /水或乙腈 /水并在水相中加入少量乙酸铵时,各组分经 ESI 源形成的加合物离子主要为 $[M + NH_4]^+$ 、 $[M + H]^+$ 、 $[M + Na]^+$,其中胺菊酯、甲氰菊酯、生物苜蓿菊酯、氟胺氰菊酯的 $[M + H]^+$ 离子丰度最高,所以选用其作为这些组分的母离子;氟氰戊菊酯、 β -氟氯氰菊酯、高效氯氟氰菊酯、 α -氯氰菊酯、溴氰菊酯、氰戊菊酯、氯菊酯、联苯菊酯的 $[M + NH_4]^+$ 离子丰度最高,因此选用 $[M + NH_4]^+$ 为这些组分的母离子。

在水相中添加相同浓度 (10 mmol/L) 乙酸铵时,比较甲醇 /水或乙腈 /水为流动相时质谱的信号响应。结果表明,用甲醇 /水为流动相时的离子化效率明显高于乙腈 /水。对乙酸铵浓度优化的实验结果表明,流动相中添加 5.0 mmol/L 乙酸铵时,各组分的离子化的效率最高,质谱检测的灵敏度最佳。所以,最后选定的流动相为甲醇 /5.0 mmol/L 乙酸铵溶液。

用优化后的流动相及梯度程序、混合标准溶液 (1.0 mg/L) 进样,设定不同组分测定的时间段,选用母离子扫描方式,实验碎裂电压为 6Q 8Q 10Q 12Q 14Q 16Q 和 200 V 时各待测组分的质谱响应。结果表明,碎裂电压低时离子的传输效率低,而电压高则会发生源内裂解导致质谱响应下降,所有组分在 100~120 V 下有最佳的质谱响应值。优化后的碎裂电压见表 1。

3.3 ASE 萃取条件的优化

土壤、沉积物中菊酯类农药萃取的方法主要有超声波提取^[8,9,13,14]、微波辅助萃取^[10,12]、加速溶剂萃取(加压溶剂萃取)^[7,11,15]。加速溶剂萃取具有回收率高、有机溶剂用量少、萃取速度快、基体影响较小等优点,本工作采用加速溶剂萃取法对待测组分进行萃取。

以正己烷 /丙酮 (1:1, V/V) 为萃取剂,研究了萃取时间 (5, 10, 15 和 20 min)、萃取温度 (40, 50, 60, 80 和 100 °C) 对回收率的影响。结果表明,萃取时间大于 10 min 时,萃取效果基本一致,但萃取时间越长,萃取出来的样品基质对后续分离、测定过程的影响增大,因此选择萃取的时间为 10 min。在此

实验条件下, 萃取温度对回收率的影响不明显。

3.4 方法的精密度和回收率

取处理后待测的沉积物样品 8 份, 添加一定浓度的混合标准溶液 (20.0 μg/kg) 于每份样品中, 经 24 h 老化后进行测定, 计算方法的相对标准偏差 (RSD)。同上过程, 进行加标回收实验, 结果见表 2。实验结果表明, 样品加标回收率在 67.9% ~ 97.3% (20.0 μg/kg) 之间; 相对标准偏差为 1.07% ~ 8.61% (20.0 μg/kg n = 8)。

3.5 方法的检出限、定量限及线性范围

准确配制浓度分别为 0.002, 0.005, 0.02, 0.05, 0.10, 0.50 和 1.0 mg/L 的标准溶液。按“2.3”节所述的条件进行分析, 以峰面积 *Y* 对质量浓度 *X* (mg/L) 作图。在色谱分离中, 因同分异构体出现两个峰的胺菊酯、β-氟氯氰菊酯、氰戊菊酯, 以各组分的峰面积总和进行定量。各组分检测的线性方程、相关系数及线性范围见表 2。结果表明, 所测组分在表中所述的浓度范围内有良好线性。

本方法的检出限 (*SN* = 3) 与定量限 (*SN* = 10) 结果见表 2。表 2 中的检出限已经换算为固体样品中最终可检出的目标物的含量 (μg/kg), 各目标组分的检出限在 0.08 ~ 0.8 μg/kg 之间, 这与文献 [8, 11] 报道的检出限 (GC-ECD) 在同一数量级。

表 2 方法的线性范围、线性方程、相关系数、检出限、定量限、回收率及精密度的

Table 2 Linear ranges, linear equations, coefficient factors (*r*), limits of detection (3σ), limits of quantification (10σ), standard added recoveries and relative standard deviations (RSDs, *n* = 8) for the developed method

农药 Pesticides	线性范围 Linear range (μg/kg)	线性方程 Linear equations	相关系数 Correlation coefficients (<i>r</i>)	检出限 Limits of detection (LOD, μg/kg)	定量限 Limits of quantification (LOQ, μg/kg)	回收率 Recoveries (%)	精密度的 (RSD, <i>n</i> = 8 %)
胺菊酯 Tetramethrin	0.4 ~ 100	$Y = 2531.7X - 4227.4$	0.9999	0.1	0.4	86.0	1.12
氟氰戊菊酯 Flucythrinate	2.0 ~ 200	$Y = 58.7X - 24.0$	0.9999	0.3	1.2	84.3	3.97
β-氟氯氰菊酯 β-Cyfluthrin	5.0 ~ 200	$Y = 65.6X - 71.1$	0.9999	0.8	2.5	89.4	2.30
甲氰菊酯 Fenprothrin	0.4 ~ 100	$Y = 1873.2X - 5481.7$	0.9999	0.1	0.4	97.3	2.85
高效氯氟氰菊酯 λ-Cyhalothrin	2.0 ~ 200	$Y = 120.2X - 101.2$	0.9999	0.4	1.5	89.5	1.07
α-氯氟菊酯 α-Cypermethrin	2.0 ~ 200	$Y = 318.1X - 844.5$	0.9999	0.4	1.5	89.8	1.28
溴氰菊酯 Deltamethrin	2.0 ~ 200	$Y = 285.8X + 63.6$	0.9999	0.4	1.5	82.2	5.22
氰戊菊酯 Phenvalerate	5.0 ~ 200	$Y = 87.3X - 58.2$	0.9998	0.5	2.0	89.7	3.06
生物苯咪菊酯 Bioresmethrin	0.4 ~ 100	$Y = 2458.1X - 269.5$	0.9999	0.08	0.3	67.9	8.61
氟胺氰菊酯 Tau-fluvalinate	0.4 ~ 100	$Y = 979.8X - 351.4$	0.9999	0.1	0.4	77.7	7.97
氯菊酯 Permethrin	0.4 ~ 100	$Y = 548.9X - 367.5$	0.9999	0.1	0.4	72.0	6.29
联苯菊酯 Bifenthrin	0.4 ~ 100	$Y = 1066.7X + 2039.8$	0.9997	0.08	0.3	73.4	3.02

3.6 实际样品分析结果

采用本方法对采集自福建省罗源湾的 5 个近岸沉积物样品进行了分析。采样站位的经纬度和测定结果见表 3。结果表明, YBFJLY0102 样品中联苯菊酯为 8.4 μg/kg, 氯菊酯含量为 9.5 μg/kg, YBFJLY0101 样品中氯菊酯为 5.6 μg/kg, 其它样品中均未检出目标组分。

表 3 采样站位的经纬度和测定结果

Table 3 Latitude and longitude of sampling stations and determination results

站位号 Sampling station	经纬度 Latitude and longitude	测定结果 Results	站位号 Sampling station	经纬度 Latitude and longitude	测定结果 Results
FJ015	E 119° 38' 45" N 26° 28' 05"	ND	YBFJLY0102	E 119° 37' 28" N 26° 27' 57"	联苯菊酯 Bifenthrin 8.4 μg/Kg
FJ017	E 119° 46' 10" N 26° 24' 18"	ND			氯菊酯 Permethrin 9.5 μg/Kg
FJ019	E 119° 43' 27" N 26° 23' 12"	ND	YBFJLY0101	E 119° 37' 57" N 26° 27' 57"	氯菊酯 Permethrin 5.6 μg/Kg

ND: 未检出 (Not detected).

本实验建立了以正己烷-丙酮为萃取溶剂、加速溶剂萃取法对近岸及河口沉积物中 12 种菊酯类农药萃取、液相色谱-串联质谱定性定量分析的方法。本方法简单、快速,能满足近岸及河口沉积物中痕量菊酯类农药测定的要求。

References

- 1 Shukla Y, Yadav A, Arora A. *Cancer Lett.*, **2002**, 182 (1): 33~41
- 2 ZHOU Ming-Ying(周明莹), LU Xia(刘霞), SUN Yao(孙耀), QIAO Xiang-Ying(乔向英). *Marine Fisheries Research*(海洋水产研究), **2008**, 29(4): 74~77
- 3 Shukla Y, Arora A, Singh A. *Toxicology*, **2001**, 163 (1): 1~9
- 4 Go V, Garey J, Wolf M S, Pogo B G T. *Environ Health Perspect*, **1999**, 107(7): 173~177
- 5 TAN Xiaozhen(谭晓珍), WU Yin(吴垠), LI Tao(李韬), JI Jin(纪瑾), CHEN Lei(陈雷), GU Li(谷丽). *Journal of Dalian Fisheries University*(大连水产学院学报), **2005**, 20(3): 203~207
- 6 Amweg E L, Weston D P, You J, Lydy M J. *Environ. Sci Technol*, **2006**, 40(5): 1700~1706
- 7 Weston D P, Holmes R W, Lydy M J. *Environ. Pollut*, **2009**, 157(1): 287~294
- 8 You J, Weston D P, Lydy M J. *Arch Environ Contam. Toxicol*, **2004**, 47(2): 141~147
- 9 MO Xiaorong(莫小荣), ZHENG Chunhui(郑春慧), CHEN Jianwei(陈建伟), ZHAO DaoYuan(赵道远), YANG Mingmin(杨明敏). *Chinese J. Anal Chem.*(分析化学), **2009**, 37(8): 1178~1182
- 10 Yasin M, Baugh P J, Bowrick G A. *J. Chromatogr. A*, **1996**, 754(1-2): 235~243
- 11 Esteve-Turrillas F A, Pastor A, de la Guardia M. *Anal Bioanal Chem.*, **2006**, 384(3): 801~809
- 12 Mekebri A, Crane D B, Blondina G J, Oros D R, Rocca J L. *Bull Environ Contam. Toxicol*, **2008**, 80(5): 455~460
- 13 Smalling K L, Kuivik K M. *J. Chromatogr. A*, **2008**, 1210(1): 8~18
- 14 Xue N D, Li F S, Hou H, Li B W. *Environ Toxicol Chem.*, **2008**, 27(5): 1055~1062
- 15 Wang L G, Jiang X, Yan D Y, Forster S, Martens D. *Pedosphere*, **2004**, 14(2): 229~234
- 16 GAO Yun(高芸), ZHU Xiaolan(朱晓兰), LIN Hui(林辉), YANG Yan(杨艳). *Analytical Instrumentation*(分析仪器), **2005**, (3): 34~36
- 17 Chen T W, Chen G N. *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **2007**, 21(12): 1848~1854
- 18 GB 17378.3-2007. The Specification for Marine Monitoring - Part 3 Sample Collection, Storage and Transportation(海洋监测规范第 3 部分: 样品采集、贮存与运输)

Determination of Pyrethroid Pesticides in Estuarine and Coastal Sediments by Accelerated Solvent Extraction and Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry

YANG Lin¹, WEN Yuyun^{2,3}, GONG Zhenbin^{*2,3}

¹(Monitoring Center of Marine Environment and Fishery Resources, Fuzhou 350003)

(College of Oceanography and Environmental Science², State Key Laboratory of Marine

Environmental Science³, Xiamen University, Xiamen 361005)

Abstract A rapid and accurate method was developed for the measurement of 12 pyrethroid pesticides in estuarine and coastal sediments by accelerated solvent extraction (ASE) and liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS). The pyrethroid pesticides were extracted in 5.0 min and repeated one more time by ASE using mixed solvent of n-hexane and acetone (1:1, V/V) at 60 °C and pressure of 10.3 MPa with static extraction mode. After concentrated, the pesticides were separated with XDB-C₁₈ column with mobile phase of methanol and water containing 2.5 mmol/L ammonium acetate, and then determined with tandem mass spectrometer using positive ESI at MRM mode. Under the optimized conditions, relative standard deviation (RSD) for developed method was 1.1% - 8.6% (20.0 μg/kg, n = 8), standard added recoveries were 67.9% - 97.3%, and the limits of quantification (LOQ, 10σ) were 0.5 - 2.5 μg/kg.

Keywords Pyrethroid pesticides; Estuarine and coastal sediment; Liquid chromatography; Tandem mass spectrometry; Accelerated solvent extraction

(Received 8 November 2009; accepted 3 February 2010)