

# 使用安捷伦 J&W DB-35ms 超高惰性色谱柱和 DB-XLB 色谱柱对水中低于 $\mu\text{g}/\text{L}$ 级的有机氯农药和除草剂进行 GC/ $\mu\text{ECD}$ 法分析

## 应用报告

环境保护

### 作者

Doris Smith and Ken Lynam  
Agilent Technologies, Inc.  
2850 Centerville Rd  
Wilmington, DE 19808

### 摘要

本文中使用了安捷伦 SPEC C18AR 液固萃取 (LSE) 膜盘成功提取了水中的有机氯农药残留和除草剂。使用双柱配置的 GC/ $\mu\text{ECD}$  系统进行检测, 安捷伦 J&W DB-35ms UI 超高惰性色谱柱用于初步分析, DB-XLB 色谱柱用于进一步确认。该方法为浓度接近或低于最大污染限值的含氯有机物提供了高度灵敏和高度一致的分析方案。根据预估的分析物萃取浓度, 方法使用的校准范围为 1 到 100 ng/mL。研究分别对一个 0.01  $\mu\text{g}/\text{L}$  的加标水样和一个自来水样进行了提取和分析, 以测试该分析方案的有效性。

### 前言

农药和除草剂在农业生产和日常生活中普遍使用。在很多环境的地下水和地表水中都检出有农药残留。喷洒农药过后的残留物经地表径流渗透到土壤进入到地下水, 进而进入到供水系统。由于农药对健康和环境会造成严重的影响, 因而人类饮用水污染问题受到越来越多的关注。长期使用污染水所导致的潜在健康问题包括肝脏损伤和致癌几率加大, 最近的研究表明饮用污染水还可能导致内分泌紊乱[1,2]。欧盟 (EU) 和美国环保局 (EPA) 已经立法规定了饮水中农残的最大允许浓度值[2,3,4]。



Agilent Technologies

色谱柱和衬管的情性对获得高度一致和可靠的分析结果有非常关键的影响，尤其是在分析具有挑战性的农残如异狄氏剂和 DDT 时，因为这些化合物非常容易和衬管或色谱柱上的活性点发生反应 [5,6]。最大限度地降低分析路径的活性是法规要求的痕量分析获得准确结果的关键。该研究采用了安捷伦超高情性的色谱柱和衬管，以确保分析路径的全程情性。

使用 GC/ $\mu$ ECD 双色谱柱配置对有机氯农残进行了定量。安捷伦 J&W DB-35ms 超高情性色谱柱用来进行初步分析，而 J&W DB-XLB 色谱柱用于进一步确认，与初步分析用的色谱柱相比，其极性较弱的固定相有助于分析物的识别。

DB-35ms 超高情性色谱柱对有机氯农药具有良好的选择性，可实现 EPA508.1 方法中 37 种农药和除草剂的高效分离。EPA508.1 方法推荐使用五氯硝基苯和 4,4'-二溴联苯分别作为内标物和替代标准物。但因为这两种化合物和我们的目标物在色谱柱上共流出，本研究改用 CLP 农残分析中常用的替代标准物四氯间二甲苯 (TCMX) 和十氯联苯，从而很好地解决了共流出的问题。

校准曲线的制备需要大量的时间并消耗大量的试剂。人工的样品制备过程更是容易产生误差，使结果的重复性和精密度变差。安捷伦 7696A 样品制备工作台可以自动化完成多种样品制备操作，同时显著降低溶剂消耗和样品制备的时间。安捷伦 7696A 样品制备工作台在多个样品制备应用中表现出了极高的精密度和重复性，有效降低了随机误差的产生 [8,9,10]。

有机氯农药和除草剂通过液-固萃取的方式从水中萃取出来。由于目标分析物的浓度可能为痕量水平，因而需要大量的水样以萃取出足够检出量的农药。现行方法的样品体积为 1L，使用传统的萃取方法萃取时会耗费大量的时间，而安捷伦 SPEC C18AR 47 mm LSE 萃取盘可以在加速萃取的同时有效地保留目标化合物。

## 实验部分

本研究使用配置了双  $\mu$ ECD 检测器和 7683B 自动进样器的安捷伦 7890A GC 进行样品分析。使用情性三通装置按照 1:1 的比例将流出物分流到初级色谱柱和确认色谱柱。表 1 为该研究所采用的气相色谱条件，表 2 为研究所需的流路耗材，表 3 为样品制备所需耗材。

表 1. 色谱条件

色谱柱 1	安捷伦 DB-35ms UI 30 m $\times$ 0.32 mm, 0.25 $\mu$ m (部件号 123-3832UI)
色谱柱 2	安捷伦 DB-XLB 30 m $\times$ 0.32 mm, 0.5 $\mu$ m (部件号 123-1236)
GC/ $\mu$ ECD 进样器	安捷伦 7890 系列 GC 安捷伦 7683 自动液体进样器, 5.0 $\mu$ L 锥形进样针 (部件号 5181-1273)
CFT 装置 分流比	情性三通 (部件号 G3184-60065) 1:1
保留间隙柱	5 m $\times$ 0.32 mm 内径的去活熔融石英管
进样口	2 $\mu$ L 不分流; 250 $^{\circ}$ C;
吹扫气流速	60 mL/min, 0.5 min
载气	氦气, 平均流速: 35 cm/s (80 $^{\circ}$ C)
柱温箱	80 $^{\circ}$ C (0.5 min), 26 $^{\circ}$ C/min 到 175 $^{\circ}$ C, 6.5 $^{\circ}$ C/min 到 235 $^{\circ}$ C, 15 $^{\circ}$ C/min 到 300 $^{\circ}$ C (6 min)
$\mu$ ECD	340 $^{\circ}$ C, 恒定柱流 + 尾吹 ( $N_2$ ) = 30 mL/min

表 2. 流路耗材

样品瓶和瓶盖	MS-认证的棕色钳口玻璃样品瓶和瓶盖套装 (部件号 5190-2283)
样品瓶内插管	250 $\mu$ L, 玻璃/聚合物支脚 (部件号 5181-8872)
进样针	5 $\mu$ L, 锥形 (部件号 5181-1273)
隔垫	高级绿色隔垫 (部件号 5183-4759)
进样口衬管	超高情性单锥衬管 (部件号 5190-2292)
垫圈	0.5 mm 内径短圈; 85% Vespel/15% 石墨垫圈 (部件号 5062-3514)
CFT 接头	内螺帽 (部件号 G2855-20530)
CFT 垫圈	SilTite 垫圈, 0.32 mm 内径 (部件号 5188-5362)
20 倍放大器	20 倍放大环 (部件号 430-1020)

表 3. 样品制备耗材

SPEC 膜盘	安捷伦 SPEC C18AR 47 mm (部件号 A74819)
SPEC 膜盘多管系统	SPEC 6 位装置 (部件号 A712) SPEC 支架 (部件号 A713) SPEC 1 L 溶剂瓶 (部件号 A714)

## 试剂和化学品

所有试剂均为 ACS 级或者 Ultra Resi 级。乙酸乙酯 (EtOAc)、甲醇 (MeOH) 和二氯甲烷 (MeCl<sub>2</sub>) 来自于 JT Baker, 通过 VWR International (West Chester, PA) 购得。盐酸 (HCl) 和亚硫酸钠 (Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>) 购于 Sigma-Aldrich (St. Louis, MO)。EPA508.1 标准品和替代标准品购于 Ultra Scientific (North Kingstown, RI, USA)。

## 溶液和标准品

配制 50 mg/mL 的亚硫酸钠水溶液。该溶液在采样过程中加入到水样中以消除残余氯。按照 1:1 的比例配制乙酸乙酯和二氯甲烷的混合溶液, 只需等量混合两种溶剂。

将 25 mL HCl 滴加到装有约 22 mL 水的 50 mL 容量瓶中, 容量瓶置于冷水浴中, 边滴边冷却, 滴加完成待溶液冷却至室温后, 加水定容至刻度, 充分混匀, 配制成 6 N 的 HCl 溶液。

将市售的农药原液用乙酸乙酯稀释成浓度为 1 µg/mL 的初级标准溶液, 该溶液用于添加到水样中, 用于方法分析。用乙酸乙酯配制 1 µg/mL 的替代标准溶液, 并在萃取前加入到水样中。

使用安捷伦 7696A 样品制备工作台, 以乙酸乙酯为溶剂, 通过标准和替代标准的初级溶液制备浓度从 1 到 100 ng/mL 的校准系列溶液。

## 样品制备

使用安捷伦 SPEC C18AR 47 mm 固-液萃取膜盘对 1L 水样进行萃取, 将萃取液吹干、浓缩后利用 GC 进样分析。图 1 为液固萃取 (LSE) 样品制备的流程图。

向 1 L 水样中加入 1 mL 50 mg/mL 的亚硫酸钠溶液, 以消除残留的氯。用 6 N HCl 溶液调节水样的 pH 至 2 以下。向溶液中加入适量的农药标准溶液, 配成含分析物浓度 0.01 µg/L 的质控样品 (QC)。

安装好真空多管抽滤装置, 将 SPEC 膜盘皱面向上放置在过滤头上, 用 5 mL 1:1 的乙酸乙酯和二氯甲烷混合溶液浸润活化 1min, 然后在真空下缓慢抽滤。再加入 5 mL 甲醇, 继续缓慢抽滤。注意抽滤结束后在膜盘上保留一浅层甲醇防止膜盘变干。最后, 用 5 mL 水冲洗膜盘, 缓慢真空抽滤后, 在膜盘上保留一浅层溶液防止膜盘变干。

将 5 mL 甲醇加入到 1 L 水样中充分混匀。加入适量的替代标准溶液, 振荡。将水样以 75-100 mL/min 的速度抽滤通过萃取膜盘, 水样抽滤结束后, 继续抽滤 10min 以干燥膜盘。

将滤液瓶取出, 换上装有收集管的烧瓶, 将收集管与膜盘基座的流出端相连, 将过滤装置重新安装好。用 5 mL 乙酸乙酯冲洗样品收集瓶, 并用一次性移液管转移到膜盘上。真空缓慢抽滤洗脱溶剂。然后换用 5 mL 二氯甲烷重复洗脱步骤。使用一次性玻璃移液管移取 3 mL 乙酸乙酯:二氯甲烷为 1:1 的溶液淋洗滤层, 重复此操作两次。

使洗脱液流经装有 5 到 7g 无水硫酸钠的玻璃干燥管进行干燥。用 3 mL 乙酸乙酯:二氯甲烷为 1:1 的溶液冲洗干燥管两次。将萃取液和淋洗液收集到一个浓缩管中, 用 Labconco CentriVap 离心浓缩仪 (78100 系列) 浓缩至约 0.8 mL, 浓缩过程中, 用乙酸乙酯冲洗浓缩管内壁 2-3 次。最后用乙酸乙酯将萃取液体积定容至 1.0 mL, 并转移至自动进样器的样品瓶中, 利用 GC 进样分析。

## 样品萃取步骤

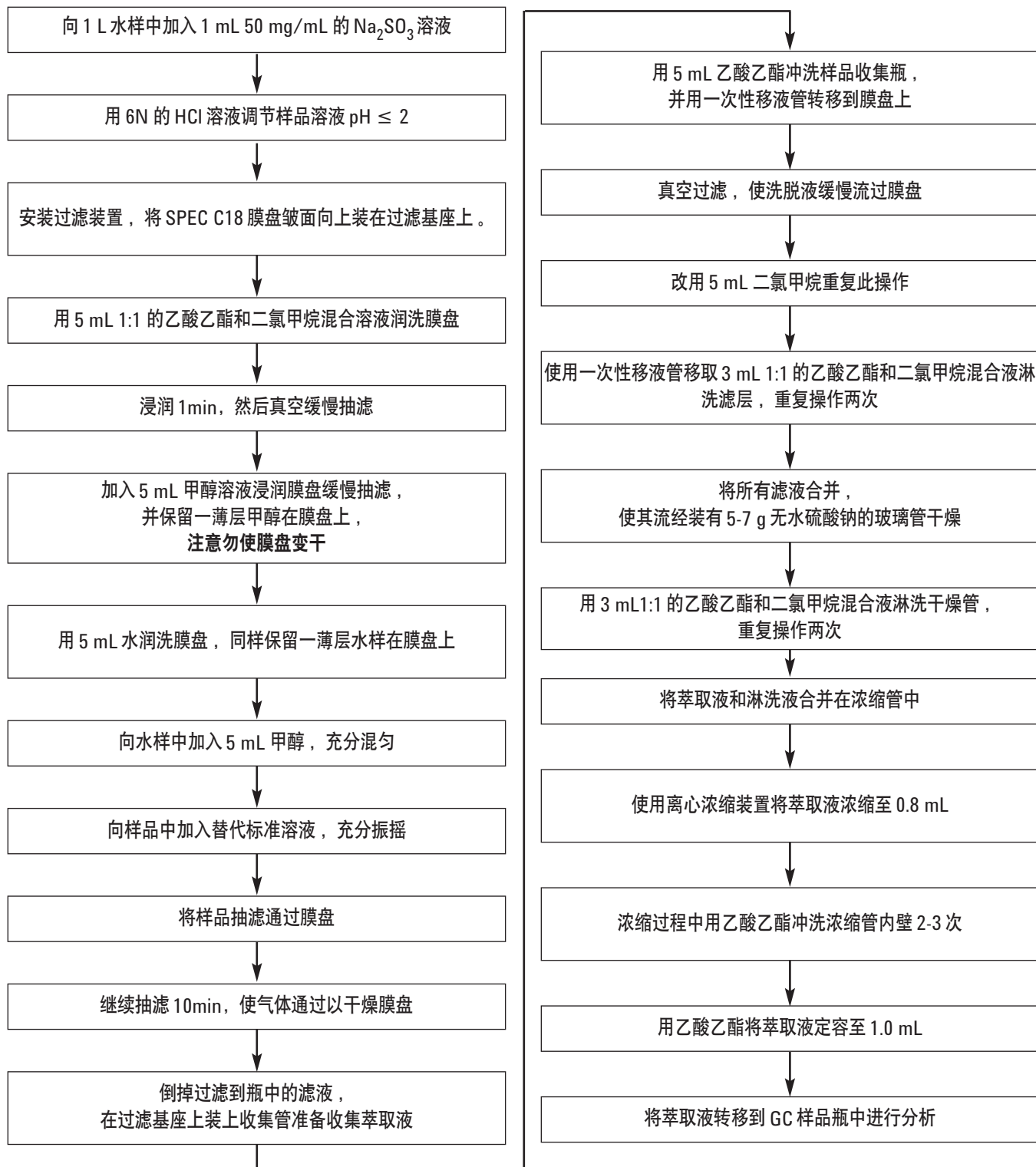


图 1. 水中有机氯农药的萃取流程图

## 结果和讨论

37 种目标有机氯农残和除草剂在安捷伦 DB-35ms UI 初级色谱柱和 DB-XLB 确认色谱柱上实现分离, 并且仅需不到 23 min 时间。图 2 为 50 ng/mL 的农残标准品乙酸乙酯溶液在双柱系统的

GC/ $\mu$ ECD 上获得的色谱图。图 3 中部分色谱图的放大视图显示的是 10 ng/mL 的 EPA 508.1 农残标准品在 DB-35ms UI 色谱柱上表现出良好的响应和分离效果。图 4 展示了 DB-XLB 色谱柱的分离性能和选择性的不同, 充分显示了其作为确认色谱柱的优势所在。

### EPA 508.1 有机氯农残和除草剂的分离

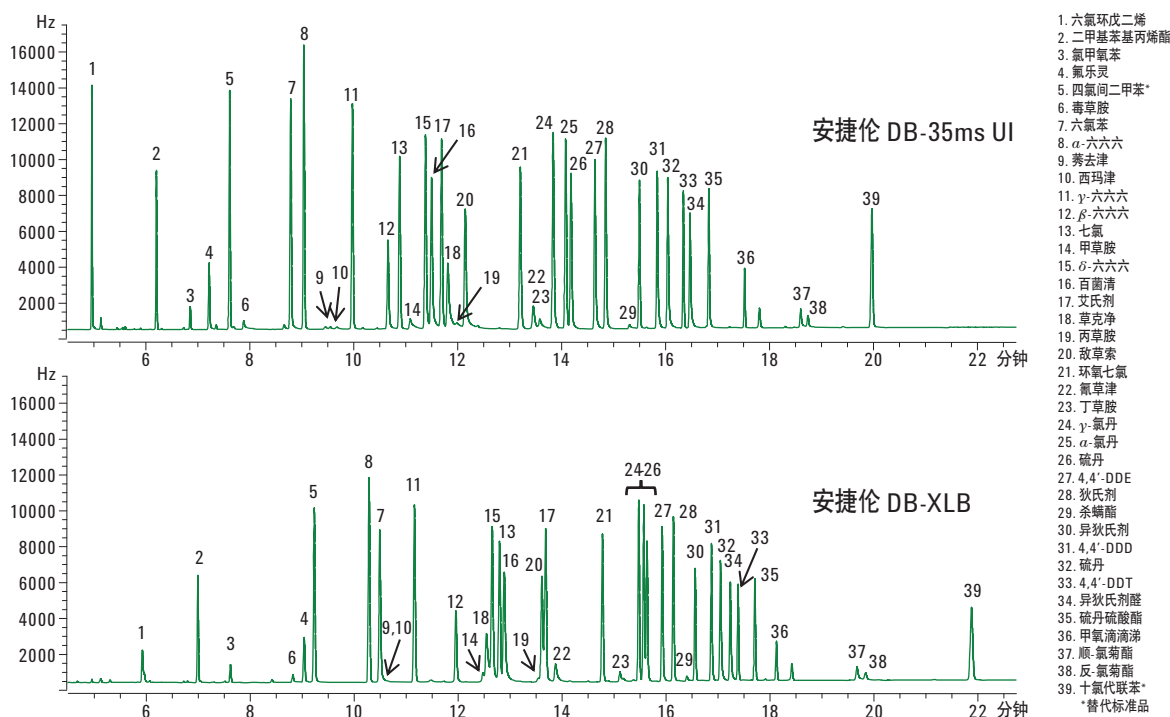


图 2. GC/ $\mu$ ECD 分析 50 ng/mL 农残标准品在双柱 J&W DB-35ms UI 30 m $\times$ 0.32 mm, 0.25  $\mu$ m 色谱柱 (部件号 123-3832UI) 和 DB-XLB 30 m $\times$ 0.32 mm, 0.5  $\mu$ m 色谱柱 (部件号 123-1236) 上的色谱图。该标液为农残标准物质的乙酸乙酯溶液, 使用安捷伦 7696A 样品制备工作台制备, 色谱分析条件参考表 1

## EPA 508.1 低浓度农残在安捷伦 DB-35ms UI 色谱柱上的峰形和分离效果

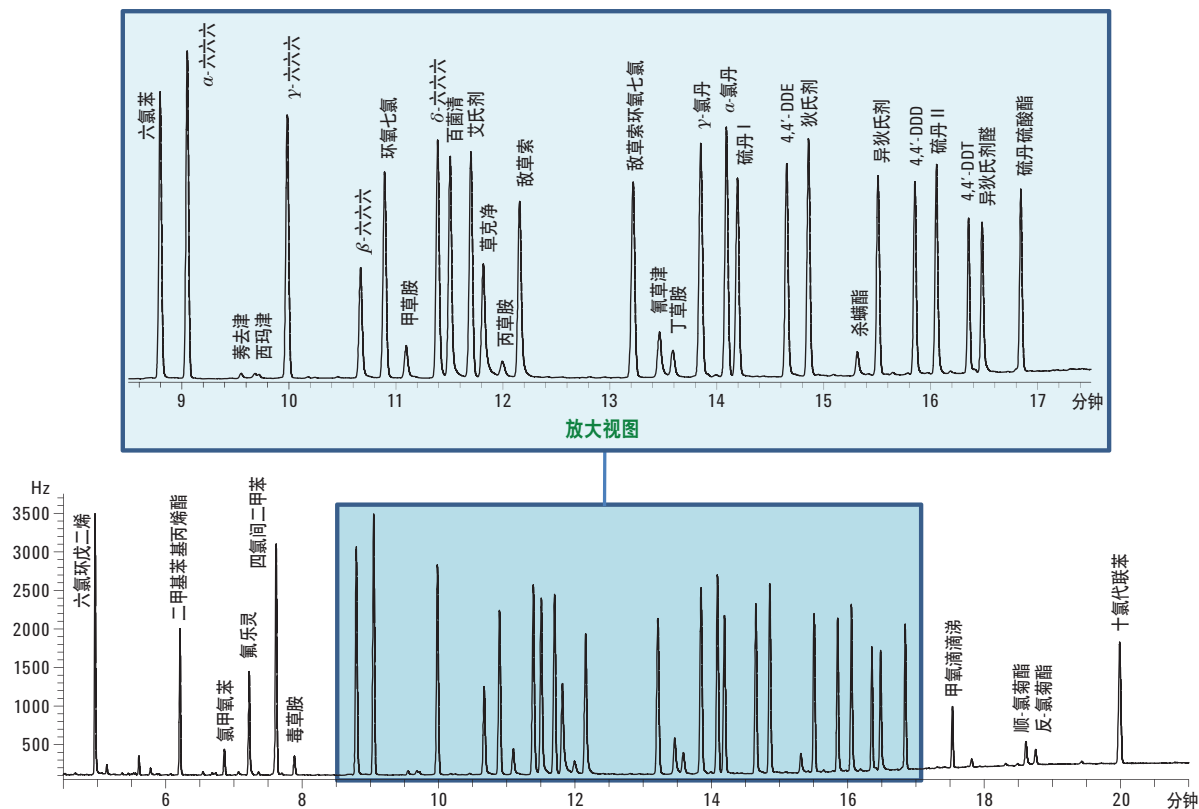


图 3 GC/ $\mu$ ECD 分析 10 ng/mL 有机氯农残标准品在 DB-35ms UI 30 m $\times$ 0.32 mm, 0.25  $\mu$ m 色谱柱上谱图的部分放大视图。色谱分析条件参考表 1

## EPA 508.1 低浓度农残标准品在 DB-XLB 色谱柱上的峰形和分离效果

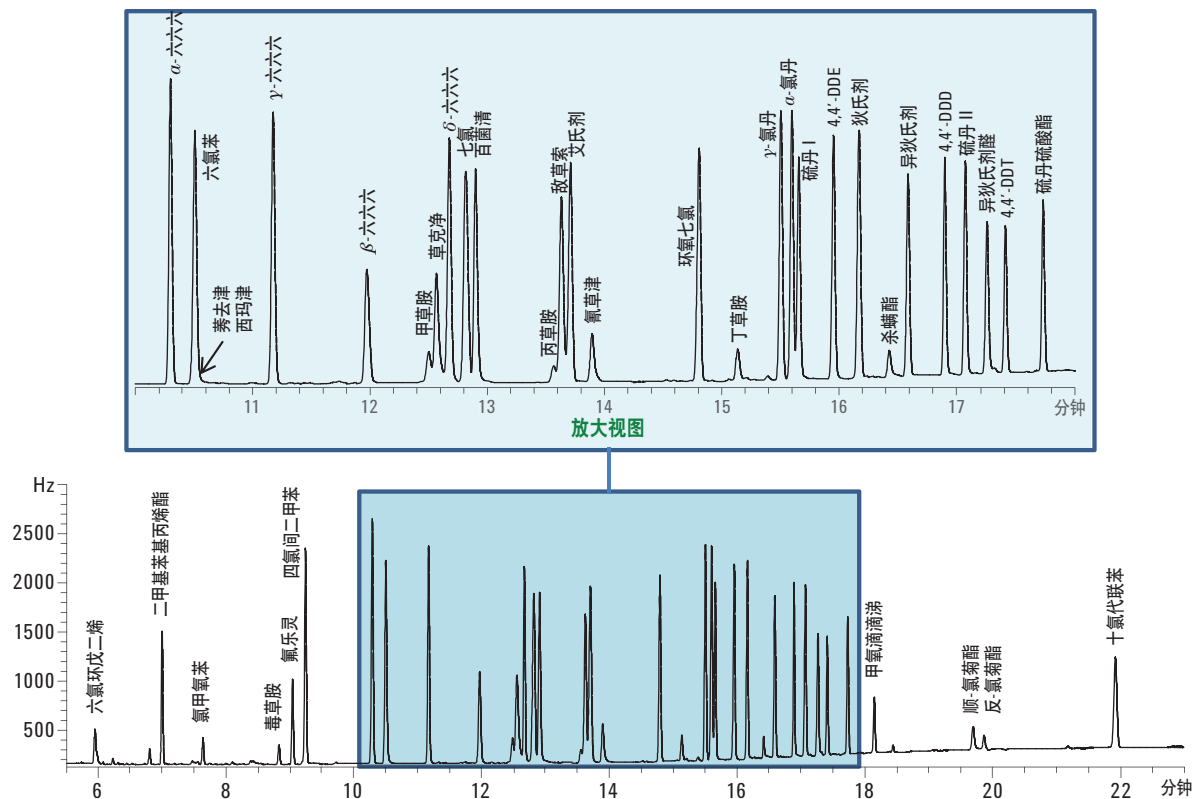


图 4 GC/μECD 分析 10 ng/mL 有机氯农残标准品在 DB-XLB 30 m×0.32 mm, 0.5 μm 色谱柱上谱图的部分放大视图。色谱分析条件参考表 1

为测试方法的线性，制备了 7 个浓度水平的校准曲线。校准曲线的线性用相关系数 ( $R^2$ ) 来表示，可用其来评估气相色谱色谱柱性能的好坏。将市售原液配制的初级标准溶液乙酸乙酯逐级稀释，配制成 1, 2.5, 5, 10, 25, 50 和 100 ng/mL 共 7 个浓度的标准样品溶液，使用安捷伦 7696A 样品制备工作台进行此标准样品制备操作。

如果得到非线性的响应则意味着目标物发生分解或者在进样口或色谱柱上产生了吸附作用。该研究中，使用 DB-35ms UI 和 DB-XLB 色谱柱，在整个线性范围内获得的相关系数  $R^2 \geq 0.993$ ，农残各组分的相关系数值参见表 4。

表 4. GC/ $\mu$ ECD 分析 EPA 508.1 有机氯农残各组分校准曲线的相关系数 ( $R^2$ )

## 线性结果

分析物	$R^2$		分析物	$R^2$	
	Agilent DB-35ms UI	DB-XLB		Agilent DB-35ms UI	DB-XLB
六氯环戊二烯	0.9996	0.9930	敌草索环氧七氯	0.9998	0.9998
二甲基苯基丙烯酸酯	0.9982	1.0000	氟草津	0.9994	0.9998
氯甲氧苯	0.9982	0.9981	丁草胺	0.9990	0.9992
氟乐灵	0.9976	0.9976	$\gamma$ -氯丹	0.9998	0.9999
四氯间二甲苯 (ss)	0.9997	0.9997	$\alpha$ -氯丹	0.9998	0.9998
毒草胺	0.9996	0.9986	硫丹 I	0.9998	0.9997
六氯苯	0.9996	0.9991*	4,4'-DDE	0.9998	0.9998
$\alpha$ -六六六	0.9998	1.0000	狄氏剂	0.9998	0.9999
莠去津	0.9941	*	杀螨酯	0.9940	0.9985
西玛津	0.9971	*	异狄氏剂	0.9998	0.9996
$\gamma$ -六六六	0.9999	0.9998	4,4'-DDD	1.0000	0.9999
$\beta$ -六六六	0.9998	0.9999	硫丹 II	0.9999	0.9999
七氯	0.9999	0.9998	4,4'-DDT	0.9993	0.9996
甲草胺	0.9986	0.9989	异狄氏剂醛	1.0000	0.9999
$\delta$ -六六六	0.9999	0.9996	硫丹硫酸酯	0.9997	0.9997
百菌清	1.0000	1.0000	甲氧滴滴涕	0.9993	0.9982
艾氏剂	0.9998	0.9994	顺-氯菊酯	0.9992	0.9992
草克净	0.9997	0.9985	反-氯菊酯	0.9988	0.9995
丙草胺	0.9973	0.9987	十氯代联苯 (ss)	0.9998	0.9997
DCPA	0.9996	0.9998			

(ss) -替代标准品 \* 共流出

该方法对痕量水平的有机氯农残检测具有很高的灵敏度。欧盟规定水中单个组分的农药残留限值为  $0.1 \mu\text{g/L}$  [3]。为确保达到该检测水平，要求检测方法的检出限 (LOD) 必须低于此限值。图 5 为  $0.01 \mu\text{g/L}$  加标水样的萃取液在 DB-35ms UI 色谱柱和 DB-XLB 色谱柱上的谱图结果。该加标水样农残浓度比上述限值低 10 倍，同时也接近并低于 EPA 建立的饮水最高污染浓度 (MCLs) 限值[1]。

使用安捷伦 SPEC C18AR 液-固萃取膜盘进行样品萃取可有效保留和富集加标水样中的有机氯农残。为测定水中规定的 MCLs 水平的痕量农残组分，需要将大量水样浓缩至农残可检测水平。使用 47 mm 超大 C18 膜盘可以对 1L 水样以  $75-100 \text{ mL/min}$  的速度进行萃取，这样可以在 10min 内完成水样处理，节约了样品制备时间，提高了样品分析通量。

## GC/ $\mu$ ECD 分析空白水样和加标水样萃取液的色谱图对比

- |                  |                   |                  |                |
|------------------|-------------------|------------------|----------------|
| 1. 六氯环戊二烯        | 11. $\gamma$ -六六六 | 21. 环氧七氯         | 31. 4,4'-DDD   |
| 2. 二甲基苯基丙烯酯      | 12. $\beta$ -六六六  | 22. 氟草津          | 32. 硫丹 II      |
| 3. 氯甲苯           | 13. 七氯            | 23. 丁草胺          | 33. 4,4'-DDT   |
| 4. 氟乐灵           | 14. 甲草胺           | 24. $\gamma$ -氯丹 | 34. 异狄氏剂醛      |
| 5. 四氯间二甲苯*       | 15. $\delta$ -六六六 | 25. $\alpha$ -氯丹 | 35. 硫丹 sulfate |
| 6. 毒草胺           | 16. 百菌清           | 26. 硫丹 I         | 36. 甲氧滴滴涕      |
| 7. 六氯苯           | 17. 艾氏剂           | 27. 4,4'-DDE     | 37. 顺-氯菊酯      |
| 8. $\alpha$ -六六六 | 18. 草克净           | 28. 狄氏剂          | 38. 反-氯菊酯      |
| 9. 莠去津           | 19. 丙草胺           | 29. 杀螨酯          | 39. 十氯代联苯*     |
| 10. 西玛津          | 20. 敌草索           | 30. 异狄氏剂         | *替代标准品         |

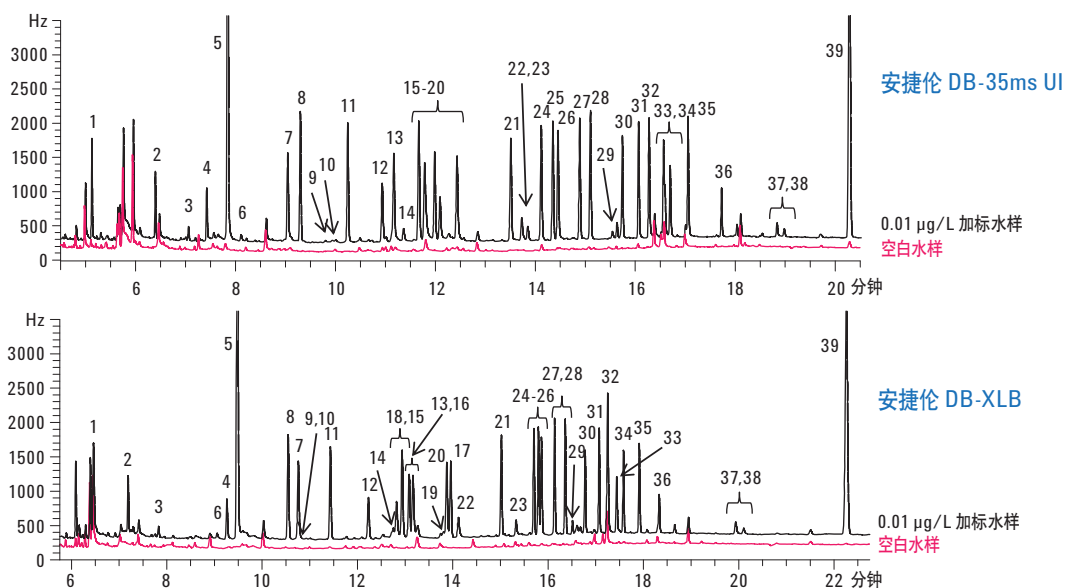


图 5. GC/ $\mu$ ECD 分析 0.01  $\mu$ g/L 加标水样和空白水样萃取液在 DB-35ms UI 30 m $\times$ 0.32 mm, 0.25  $\mu$ m 色谱柱 (部件号 123-3832UI) 和 DB-XLB 30 m $\times$ 0.32 mm, 0.5  $\mu$ m 色谱柱 (部件号 123-1236) 上的色谱图对比。样品制备流程参考图 1, 色谱条件参考表 1

使用该方法还对某饮用水水样中的有机氯农残进行了分析。自来水样品采集和制备流程参照图 1, 色谱分析条件参照表 1。在本研究的标定范围内未检出自来水中存在目标有机氯农残。样品的 GC/ $\mu$ ECD 色谱图如图 6 所示。

## GC/ $\mu$ ECD 分析空白水样和饮用水水样萃取液的色谱图对比

- |                  |                   |                  |                |
|------------------|-------------------|------------------|----------------|
| 1. 六氯环戊二烯        | 11. $\gamma$ -六六六 | 21. 环氧七氯         | 31. 4,4'-DDD   |
| 2. 二甲基苯基丙烯酸酯     | 12. $\beta$ -六六六  | 22. 氯草津          | 32. 硫丹 II      |
| 3. 氯甲氧苯          | 13. 七氯            | 23. 丁草胺          | 33. 4,4'-DDT   |
| 4. 氟乐灵           | 14. 甲草胺           | 24. $\gamma$ -氯丹 | 34. 异狄氏剂醛      |
| 5. 四氯间二甲苯*       | 15. <i>o</i> -六六六 | 25. $\alpha$ -氯丹 | 35. 硫丹 sulfate |
| 6. 毒草胺           | 16. 百菌清           | 26. 硫丹 I         | 36. 甲氧滴滴涕      |
| 7. 六氯苯           | 17. 艾氏剂           | 27. 4,4'-DDE     | 37. 顺-氯菊酯      |
| 8. $\alpha$ -六六六 | 18. 草克净           | 28. 狄氏剂          | 38. 反-氯菊酯      |
| 9. 莠去津           | 19. 丙草胺           | 29. 杀螨酯          | 39. 十氯代联苯*     |
| 10. 西玛津          | 20. 敌草索           | 30. 异狄氏剂         | *替代标准品         |

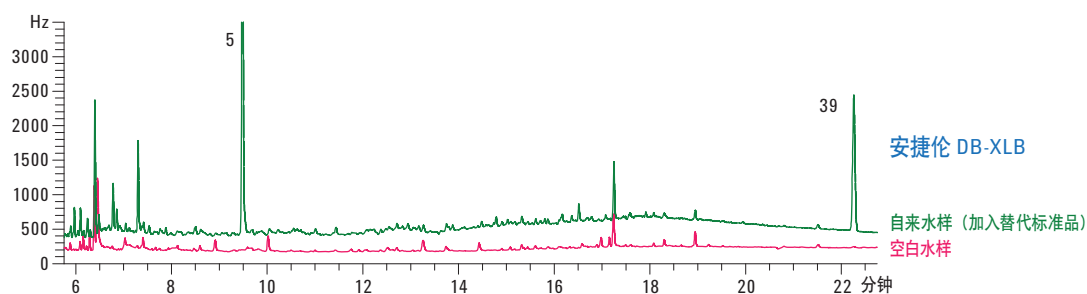
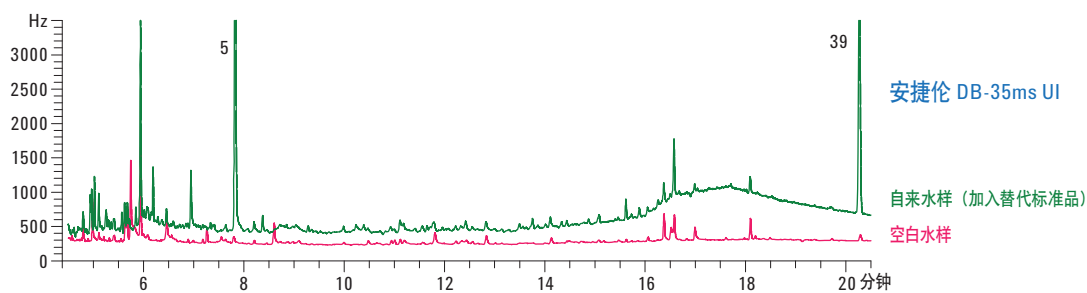


图 6. GC/ $\mu$ ECD 分析自来水水样和空白水样萃取液在 DB-35ms UI 30 m $\times$ 0.32 mm, 0.25  $\mu$ m 色谱柱 (部件号 123-3832UI) 和 DB-XLB 30 m $\times$ 0.32 mm, 0.5  $\mu$ m 色谱柱 (部件号 123-1236) 上的色谱图对比。样品制备流程参考图 1, 色谱条件参考表 1

## 结论

该应用报告开发了一种有效的分析方法用于萃取并检测水中低于  $\mu\text{g/L}$  级的有机氯农残和除草剂。安捷伦 J&W DB-35ms UI 毛细管色谱柱可高效实现 37 种目标物的分析,并在低浓度下提供卓越的灵敏度和可靠的定量水平。目标物在安捷伦 DB-XLB 色谱柱上的分离提供了高度一致的分析结果。

使用安捷伦 SPEC C18AR 47 mm 液-固萃取膜盘可从水中成功萃取和富集农残组分,在提高痕量组分检测性能的同时,有效地降低了样品制备时间。使用安捷伦 7696A 样品制备工作台制备的标准样品的校正曲线在双柱分析系统的整个线性范围内相关系数  $R^2 \geq 0.993$ 。

使用该方法可检测水中低于 EU 和 EPA 最大允许限值 10 倍浓度的农残。使用该方法成功制备并分析了  $0.01 \mu\text{g/L}$  的加标水样,充分说明了使用安捷伦 J&W DB-35ms UI 色谱柱和安捷伦 DB-XLB 色谱柱的双柱设计进行低浓度有机氯农残分析的高效性。对某自来水样品的检测,在本方法的线性范围内,未检出有任何有机氯农残。

## 致谢

作者衷心感谢 Dr. Joan Stevens 对安捷伦 LSE 萃取处理的帮助和建议。

## 参考文献

1. Vos JG, Dybing E, Greim HA, Ladefoged O, Lambré C, Tarazona JV, Brandt I, Vethaak AD. (2000) Health effects of endocrine-disrupting chemicals on wildlife, with special reference to the European situation. Crit. Rev. Toxicol. 30 (1) :71-133.
2. EPA. List of Drinking Water Contaminants & MCLs, US Environmental Protection Agency, Washington, DC, Retrieved October 14, 2003 from <http://www.epa.gov/safewater/mcl.html#mcls>.

3. ECC Council Directive 80/778/ECC. Official Journal of the European Communities, No. L 229, August 30, 1980, p 11.
4. EEC. Drinking Waters Directive, Official Journal N229/11, Directive 80/778/EEC, 1988.
5. Ken Lynam, Doris Smith.使用安捷伦 J&W DB-35ms 超高惰性气相色谱柱进行具有挑战性的农药分析 (2010).安捷伦科技,出版号:5990-6595CHCN.
6. Limian Zhao, Allan D. Broske(2010).采用气相色谱和活性化合物评估超高惰性衬管去活技术.安捷伦科技,出版号:5990-7380CHCN.
7. US EPA 1995. Method 508.1. Determination Chlorinated Pesticides, Herbicides, and Organohalides by Liquid-Solid Extraction and Electron Capture Gas Chromatography. Revision 2.0.
8. 安捷伦 7696A 样品制备工作台产品简介 (2011).安捷伦科技,出版号:5990-6908CHCN.
9. Rebecca Veeneman, Dale Snyder(2010)自动化样品制备提高数据质量.安捷伦科技,出版号:5990-6974CHCN.
10. James D. McCurry (2011),安捷伦 7696A 工作台在复杂样品自动化制备中的应用.安捷伦科技,出版号:5990-7525CHCN.

## 更多详细信息

有关我们产品和服务的更多信息,请访问 [www.agilent.com/chem/cn](http://www.agilent.com/chem/cn).

[www.agilent.com/chem/cn](http://www.agilent.com/chem/cn)

安捷伦科技公司对本资料中所包含的错误，以及由于使用本资料所引起的相关损失不承担责任。

本书中的信息、说明和性能指标如有变更，恕不另行通知

© 安捷伦科技（中国）有限公司，2012  
2012年1月24日，中国印刷  
5990-9735CHCN

