

地表水和沉积物中拟除虫菊酯类化合物的高灵敏度检测

应用报告

作者

Stephan Baumann
安捷伦科技有限公司
Santa Clara,
Santa Clara CA 95051
USA

摘要

在 Agilent 7000 系列三重四极杆气质联用系统上，使用 NCI GC/MS/MS 模式和反吹功能开发了一种地表水和沉积物中拟除虫菊酯类化合物的检测方法。水样中拟除虫菊酯类化合物评估的方法检测限（EMDL）为 0.05 ppt，沉积物中为 0.02 ppb，从而可以高效监测水源中毒性拟除虫菊酯类化合物的浓度。

前言

拟除虫菊酯类化合物是人工合成的除虫菊酯衍生物。除虫菊酯是从植物除虫菊的花中分泌的天然杀虫剂（*Chrysanthemum cinerariaefolium* 和 *C. coccineum*）。拟除虫菊酯类化合物合成于 30 年前，用于取代剧毒有机磷农药和 DDT。天然除虫菊酯可以迅速杀灭飞虫，对哺乳动物毒性小，在环境中存留时间短。然而由于它们暴露于阳光和空气中时会迅速发生降解，从而导致户外杀虫效率低。

合成的拟除虫菊酯类化合物比除虫菊酯更耐降解，现在已被广泛应用于商品农药中，包括 3500 多种 EPA 注册的产品。但是，它们对哺乳动物的毒性较大，极低的浓度（ppb）就会对鱼类和其它水生生物产生剧毒。加利福尼亚的某些沉积物和水流中发现拟除虫菊酯类化合物的浓度已达到了急性毒性水平，由于建筑和园林病虫害防治，居民用水径流已成为主要的污染源 [1]。因此，优先监测城市和郊区水源和沉积物中的拟除虫菊酯类化合物备受重视，并急需一种灵敏的检测方法。



Agilent Technologies

最初，使用气相色谱和电子捕获检测器（GC/ECD）分析拟除虫菊酯类化合物。后来采用电子轰击电离（EI）模式下的气相色谱/质谱（GC/MS）法，但它没有足够的灵敏度满足所有拟除虫菊酯类化合物的监测要求。而负化学电离（NCI）与电子捕获检测器方式相同，利用卤代化合物自身的电负性，为拟除虫菊酯类化合物的检测提供了更灵敏和高选择性的方法。

本文描述了一种采用高效萃取步骤以及使用安捷伦微板流路控制技术的气相色谱反吹功能，在 Agilent 7000 系列三重四极杆气质联用系统的 NCI 模式下对水中和沉积物中拟除虫菊酯类化合物进行高灵敏度检测的方法 [2]。多反应监测（MRM）MS/MS 分析实现了浓度低至 0.01 ppb 拟除虫菊酯类化合物的检测限，动态线性范围 0.01~10 ppb。

实验部分

标准品与试剂

所有经认证的拟除虫菊酯标准品均购自 Chem Service 公司（West Chester, PA）。每种分析物用于校准的标准品购自 AccuStandard 公司（New Haven, CT）和 Ultra Scientific 公司（North Kingstown, RI）。每种拟除虫菊酯分析物的储备溶液均由丙酮配制，并合并成包含 6 种化合物的混合储备液：联苯菊酯、顺式氰戊菊酯、 λ -氯氟氰菊酯、氟氯氰菊酯、氯氰菊酯和氯菊酯。从该混标中用丙酮制备用于强化样品的基体加标溶液。拟除虫菊酯混合储备液还可以用异辛烷配制成仪器校准混合液，浓度范围 0.01—10 ppb。分析结果以每种分析物的总浓度而不是单个立体异构体的浓度表示。使用外标法对拟除虫菊酯类化合物进行定量分析。

水样使用的替代物（用于监控萃取和样品制备过程）是二溴八氟联苯（DBOB），购自 Restek 公司（Bellefonte, PA）；沉积物样品使用的替代物是氯菌酸二丁酯（DBCE），购自 AccuStandard 公司。GPC 校准标准溶液购自 Ultra Scientific 公司，60/100 目，PR 级的弗罗里硅土购自 Floridin 公司（Berkeley Spring, WV）。OI 分析用凝胶渗透色谱（GPC）柱（J2 Scientific, Columbia, MO）用于净化萃取物。PFE 纤维素过滤器购自 Dionex 公司（Salt Lake City, UT）。

仪器

本实验在带有多模式进样口（MMI）的 Agilent 7890A 气相色谱仪，及与其联用的 Agilent 7000B 三重四极杆气质联用系统上进行，负化学电离（NCI）模式下采集数据。气相色谱使用 Ultimate Union 吹扫的反吹技术（图 1）进行反吹操作，仪器条件列于表 1。

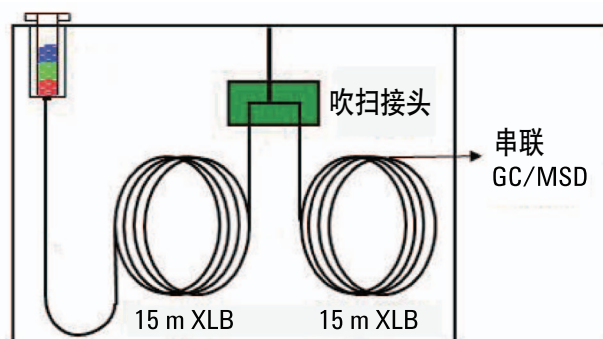


图 1. 配备柱中反吹功能的串联 GC/MS 系统。反吹是指在色谱柱运行之前除去高沸点物质，通过将后流出组分从进样口分流口反吹出，从而避免高沸点组分经过整个色谱柱进入安捷伦三重四极杆质谱系统中。安捷伦采用独特的微板流路控制技术实现了反吹，将增加的气流降到最低，从而避免了劣质载气进入质谱检测器造成的灵敏度降低。有关柱中反吹技术的详情请参考技术概述 5990-5484CHCN

表 1. 安捷伦 7890A/7000B 气相色谱和三重四极杆质谱仪的实验条件

气相色谱运行条件	
预柱	DB-XLB 15 m × 0.25 mm, 0.25 μm J&W 122-1212
分析柱	DB-XLB 15 m × 0.25 mm, 0.25 μm J&W 122-1212
进样体积	2 μL
进样口温度	240 °C
进样模式	脉冲不分流
柱箱程序	150 °C 保持 0 min; 以 30 °C/min 升至 220 °C, 保持 1 min; 再以 5 °C/min 升至 300 °C, 保持 2 min
后运行柱箱程序	时间: 0.5 min 预柱流速: -19.7 mL/min 分析柱流速: 20 mL/min
载气	氮气
传输线温度	300 °C
质谱条件	
调谐	NCI 氮气自动调谐
EMV 增益	25
采集模式	NCI 多反应监测模式 (MRM)
化学反应气体	氨 35%
碰撞气体	氮气, 恒流 0.75 mL/min
淬灭气体	氮气, 恒流 2.25 mL/min
溶剂延迟	10 min
质谱温度	离子源 150 °C; 四极杆 150 °C

样品制备

水样和沉积物样品制备方法参照先前的描述[3], 制备步骤汇总见图 2。将 1 升水样装入棕色玻璃瓶中, 在 4 °C 下冷藏, 并尽快萃取。所有水样均将拟除虫菊酯类化合物加标溶液和 DBOB 替代溶液直接放入样品瓶中。将加标后的水样手动振摇后, 用 120 mL 二氯甲烷 (DCM) 萃取 2 次。萃取液用无水硫酸钠干燥后, 在 K-D 浓缩器上浓缩到大约 2–5 mL。向浓缩液中加入石油醚 (PE) (约 50 mL, 分 3 次加入) 进行溶剂置换。再将萃取液浓缩至 5 mL, 并进一步浓缩到少于 1 mL, 最终用异辛烷定容至 2 mL。

沉积物样品首先被匀浆, 然后进行自动加压流体萃取 (PFE), 使用的 ASE 200 快速溶剂萃取仪购自 Dionex 公司 (Salt Lake City, UT), 配有 33 mL 的萃取池和纤维素过滤器。使用自动凝胶渗透色谱 GPC 净化萃取液。流动相为二氯甲烷 (DCM), 流速为 5 mL/min。GPC 的操作程序如下: 弃去前 19 min 流出液, 收集后 24 min 流出液, 再冲洗 10 min。经净化的萃取液用石油醚进行溶剂 DCM 置换, 然后在含 25 g 弗罗里硅土 (60/100 目) 的 11 mm × 300 mm 色谱柱中进行分离。相应的流出物被浓缩后, 用异辛烷定容至 2 mL。

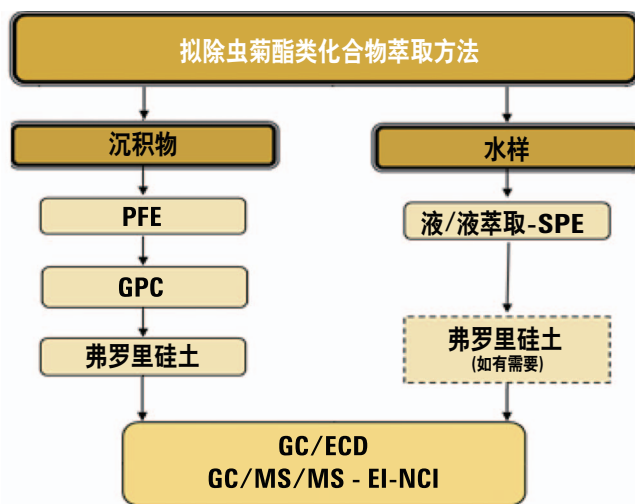


图 2. 样品制备过程的流程图显示出水样和沉积物在样品制备过程上的差异。PFE 为加压流体萃取的缩写, GPC 为凝胶渗透色谱的缩写

分析参数

三重四极杆 GC/MS 参数见表 2。

表 2. Agilent 7000B 三重四极杆 GC/MS 分析参数

拟除虫菊酯类化合物	RT (min)	NCI 模式			
		MRM	驻留时间 (ms)	碰撞能量 (EV)	增益
联苯菊酯	11.30	386→205	100	4	25
		386→161	100	10	
氟氯菊酯	13.15	241→205	100	5	25
		241→35	100	5	
氟氯菊酯和氯菊酯	16.34	209→37	75	5	75
		207→35	75	5	
		171→127	75	5	
溴氰菊酯	19.57	297→81	100	4	25
		297→79	100	4	
氰戊菊酯和顺式氰戊菊酯	18.60	213→169	75	4	25
		211→35	75	10	
氯菊酯	14.58	209→37	100	5	75
		207→35	100	5	

结果与讨论

最低检测限设置

因为水中或者沉积物中拟除虫菊酯类化合物（一些情况下 < 1ppb）对水生生物的高毒性，因此用于检测这类化合物的方法要求具有非常低的检测限。一种合理的设置检测限的方法是使用 LC₅₀ 作指导。LC₅₀ 是半数致死量，定义为导致测试种群半数死亡的毒物浓度。存在于土壤沉积物中的拟除虫菊酯类化合物可在水中分解，但从水生生物的水源采集的水样中含有可能已被拟除虫菊酯类化合物污染的溶解性固体。所以，水样中的最低检测限（MDL）设为 LC₅₀，而沉积物中的最低检测限为 LC₅₀ 的 10%。这些限量如表 3 所示。

表 3. 水样和沉积物中拟除虫菊酯类化合物要求的最低检测限

合成的拟除虫菊酯类化合物	水样 ng/L (ppt)		沉积物 ng/g (ppb)	
	LC ₅₀ 大型水蚤	LC ₅₀ 糠虾	LC ₅₀ 端足虫	MDL 目标: 10% LC ₅₀
联苯菊酯	1600	4	5	0.5
氟氯菊酯	—	—	11	1.1
λ-氯氟菊酯	—	—	4.5	0.5
氯菊酯	1000	5	3.8	0.4
顺式氰戊菊酯	150	—	15	1.5
氯菊酯	320	46	108	11

MDL: 方法检测限

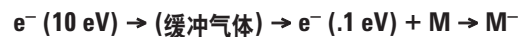
使用 NCI GC/MS/MS 进行高灵敏度检测

最初，使用气相色谱和电子捕获检测器（GC/ECD）分析拟除虫菊酯类化合物。然而，GC/ECD 检测频繁出现假阳性促使了开发 EI 源的 GC/MS 作为备选方法。虽然 GC/MS/MS-EI 的选择性显著高于 GC/ECD，但其灵敏度还是无法满足所有化合物的 MDL 要求。

与电子轰击电离质谱相比，负化学电离（NCI）提供了一种低能耗、高选择性的方法，用于复杂基质中电负性化合物的检测和定量。它与过去的电子捕获检测器一样，都是利用卤代化合物自身的电负性（图 3）。更重要的 II 型拟除虫菊酯类化合物如氟氯菊酯和氯菊酯均为电负性，适用于 NCI。然而，至少有两种 I 型拟除虫菊酯类化合物（苄呋菊酯和甲氰菊酯）无法通过传统的 NCI 技术检测。优先选择氨气作为反应气体，而不是甲烷，是因为氨气的热化能力大约是甲烷的 7 倍[4]。

使用串联四极杆质谱的优势在于可以产生高选择性母离子到子离子转换的数据，最大限度降低背景干扰，最大程度地提高了信噪比。此外，与 EI 模式相比，使用 NCI 模式的 MS/MS 可以显著增强灵敏度，同时保持选择性不变。

负化学电离



NCI 特性：

- 只有亲电分子才能捕获热电子
- 电子捕获对卤代化合物非常有效，从而实现高检测灵敏度
- 基质干扰物通常不会捕获电子，因为污染物或者基质缺乏响应，检测限一般都会非常低

图 3. 负化学电离过程说明

EMDL、IDL 和定量分析

使用 500 倍浓度的水样，GC/MS/MS-NCI 方法可提供的评估方法检测限 (EMDL) 明显低于大多数拟除虫菊酯类化合物的 MLD (表 4)。该方法检测水中溴氰菊酯的浓度可低至 0.01 ng/L 或者 0.01 ppt。采用异辛烷标准溶液测定的仪器检测限 (IDL) 也列入了表 4。仪器检测溴氰菊酯的线性上限可高达 10 ppb，线性相关系数良好， $R^2=0.9974$ (图 4)。水样中氯氰菊酯检测浓度可低至 0.1 ppt，仪器检测氯氰菊酯的线性上限可高达 10 ppb，线性相关系数更高， $R^2=0.9996$ (图 5)。

表 4. 使用氮气的 MS/MS-NCI 仪器检测限 (IDL) 和评估的方法检测限 (EMDL)*

合成的拟除虫菊酯类化合物	IDL μg/L	评估的方法检测限(EMDL)	
		水样 ng/L	沉积物 ng/g
联苯菊酯	0.01	0.05	0.01
氟氰菊酯	0.05	0.1	0.2
λ-氯氰菊酯	0.02	0.05	0.02
氯氰菊酯	0.05	0.1	0.18
溴氰菊酯	0.005	0.01	0.03
顺式氰戊菊酯	0.001	0.05	0.05
氯菊酯	0.05	0.1	1.5

EMDL 数值是基于 500 倍原始水样的浓度和 10 g 湿度为 50% 的 1 mL 沉积物样品得到的。EPA 定义的方法检测限为“对含有分析物的给定基质的样品进行分析，分析物的浓度大于 0，在 99% 的置信区间下，化合物可以被检测和报告的最低浓度”

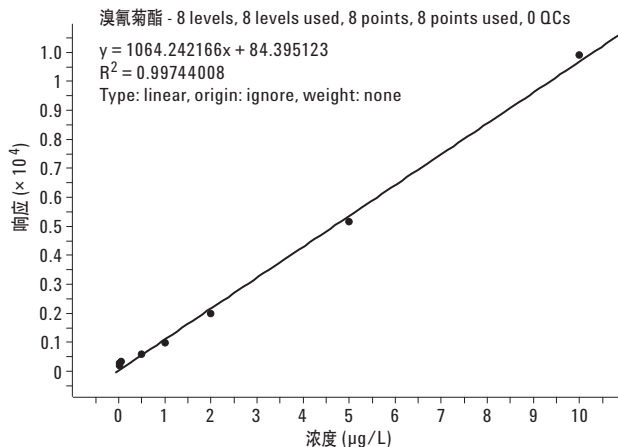


图 4. 0.01~10 μg/L 浓度范围溴氰菊酯的校准曲线。使用氮气作为 NCI GC/MS/MS 的反应气

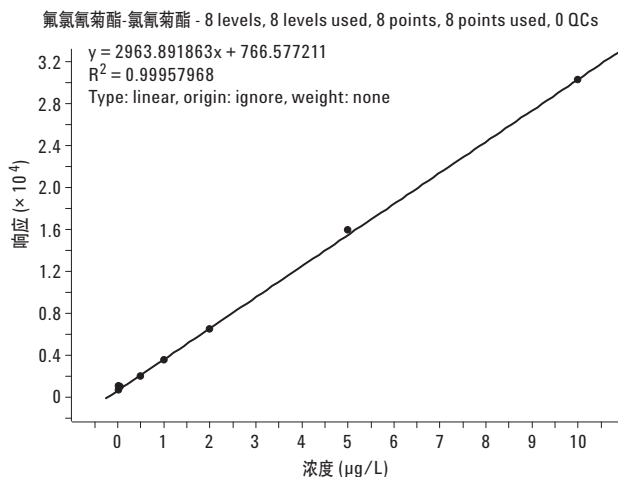


图 5. 0.05~10 μg/L 浓度范围氯氰菊酯的校准曲线。使用氮气作为 NCI GC/MS/MS 的碰撞气体

结论

使用氨气作为反应气的 NCI GC/MS/MS 分析水和沉积物样品萃取液中的拟除虫菊酯类化合物，与现有的 GC/ECD 和 GC/MS/MS-EI 方法相比，该方法提高了检测灵敏度和选择性。使用 NCI GC/MS/MS 建立的水样和沉积物中的 EMDL 明显低于 II 型拟除虫菊酯化合物如氟氯氰菊酯和氯菊酯的致毒浓度。用这种技术分析拟除虫菊酯类化合物可获得低于 ppb 级的检测限，从而确保水生生物的安全。

参考文献

1. Weston D. P., Holmes R. W., You J., Lydy M. J. "Aquatic toxicity due to residential use of pyrethroid insecticides." *Environ Sci Technol.* **39**, 9778-9784 (2005).
2. Presentation by Dr. Abdou Mekebri at the September 29, 2010 Bay-Delta Science Conference.
3. Mekebri, D. B. Crane, G. J. Blondina, D. R. Oros and J. L. Rocca "Extraction and Analysis Methods for the Determination of Pyrethroid Insecticides in Surface Water. "Sediments and Biological Tissues at Environmentally Relevant Concentrations." *Bull Environ Contam Toxicol.* **80**, 455-60. (2008).
4. *Modern Practice of Gas Chromatography*, R.L. Grob and E.F. Barry (Eds.), John Wiley & Sons, Hoboken, NJ, 4th ed., p. 382 (2004).

更多信息

此数据仅代表典型结果，有关我们产品和服务的更多信息，请访问 www.agilent.com/chem/cn。

www.agilent.com/chem/cn

安捷伦对本资料可能存在的错误或由于提供、展示或使用本资料所造成的间接损失不承担任何责任。

本资料中的信息、说明和指标如有变更，恕不另行通知。

©安捷伦科技（中国）有限公司，2012
2012年3月29日，中国印刷
5991-0116CHCN



Agilent Technologies