

### 关键字

Envirobeads S-X3 柱子  
鱼组织  
凝胶渗透色谱  
GC  
GC/MS  
GPC  
GPC AutoPrep 2000  
Optima 柱子  
PCB  
农药  
半挥发性物质  
USEPA 方法 3640A  
WinSEP

在 2003 年匹兹堡分析  
化学和应用实验室光谱会  
议上展出, 奥兰多市, 佛  
罗里达州, 2003 年 3 月  
9-14 日



## GPC AP2000 系统在鱼组织中提取分 析 PCB 和农药的评估

### 简介

凝胶渗透色谱 (GPC) 是一种采用有机溶剂和疏水性的凝胶 (主要是一种交联的二乙烯苯-苯乙烯共聚物) 来分离大分子的一种尺寸排斥的净化工艺。GPC 是一种清除样品基体中的高分子量干扰物质的极其高效的净化方法。GPC 被推荐用于在分析之前从样品中去除油脂、聚合物、蛋白质、天然树脂以及多孔状物质 (Czuczwa 和 Alford-Stevens, 1989 年)。

GPC 净化方法已经广泛地应用于大量的环境样品的分析, 尤其在采用 GC 和 GC/MS 分析半挥发性物质、农药和 PCB 之前, 用于制备样品。可以保护 GC 的柱子, 提高准确度, 而且能够得到更低的检测限。参与 USEPA 协作实验室程序 (CLP) 的实验室, 或者那些遵照 CLP 协议执行的实验室, 必须按照 USEPA 方法 3640A 的规定和 USEPA 协作实验室程序中关于有机物分析工作的声明 (文档编号 OLM02.1 和 OLM04.2) 来使用 GPC。

OI 分析仪器公司的 GPC AutoPrep 2000 GPC 净化系统 (如图 1 所示) 自动执行 GPC 的净化过程。GPC AutoPrep 2000 使用一台自动进样器, 既可以注入样品, 也可以收集净化后不同时间段的部分到各个收集瓶中。系统采用模块式设计以及电气阀驱动方式。一个注射器泵抽取样品, 而冲洗泵用于清洗针, 避免样品的残留影响。系统采用基于 Windows 的 WinSEP® GPC 控制软件进行控制, 包括功能强大的质量监测程序。



图 1 GPC AutoPrep 2000 仪器

这份应用文档评估了 GPC AutoPrep 2000 在鱼组织中分析农药、PCB 和半挥发性物质之前的净化过程。PCB 和农药采用超声方法从鱼组织中萃取出来。然后萃取液采用 GPC 进行净化。分析由配置了电子捕获检测器 (ECD) 的气相色谱 (GC) 或 GC/MS 进行。各种同类的 PCB 物质、农药和半挥发性物质的回收率也进行检测。回收率数据的典型色谱图形显示如下。

## 实验

### 材料

所有的溶剂在玻璃容器中蒸馏以适合于 HPLC、GC、农药残留分析以及分光光度计的检测。所有的化学品为 ACS 试剂级纯度。GPC 的校准标准按照 USEPA 方法 3640A 制备，含有玉米油、邻苯二甲酸酯、甲氧滴滴涕、二萘嵌苯和硫。农药、PCB 和半挥发性物质的储备标准和替代标准购买于 Restek 公司 (Bellefonte, PA)。采用正己烷或二氯甲烷进行稀释。

### 萃取

在一个无污染的烧杯中称取鱼组织 (30 克) 与 40-60 克硫酸钠混合以去除残留的水份。加入适当的标准，然后加入二氯甲烷到这个混合物中，超声大约 6 分钟。过滤萃取液并采用 Zymark 公司 TurboVap® II 浓缩仪浓缩到 20mL。取萃取液 (10mL) 于一个标记的密封管中用于归档。另外一份 10mL 样品用于 GPC 净化处理以及百分油脂检测。

### GPC 净化

农药和 PCB 样品利用 GPC 进行净化，设备为 GPC AutoPrep 2000，配置一根填充 70 克 Envirobeads S-X3 树脂的 700mm \* 25mm 的玻璃柱子。系统采用 5mL 的采样环以及 5mL/min 的流速，移动相为二氯甲烷。洗提图形采用 WinSEP 软件和 OI 分析仪器公司的 UVD-1000 UV 检测器/表格记录仪 (设置为 254nm) 记录下来。GPC 柱子按照 USEPA 方法 3640A，第 7 章 (1994 年) 的规定进行校准。柱子的流速通过在量筒中收集 10 分钟的流出液，测量体积以进行验证。玉米油、邻苯二甲酸酯、甲氧滴滴涕、二萘嵌苯和硫在柱子中的洗提时间被检测出来。选择一个排放时间以去除 85% 的邻苯二甲酸酯，但是收集超过 95% 的甲氧滴滴涕。在二萘嵌苯被洗提出来之后但在硫被洗提出来之前，停止分段收集。收集的分段溶液采用 TurboVap II 浓缩仪浓缩到 1mL，并且重新配制在 GC 分析可用的适当溶剂中。每个样品批次需要运行溶剂空白和实验室控制样品 (LCS)。

一个两步骤的 GPC 净化方法用于半挥发性有机物质的处理。第二步用于从指定类型的多脂鱼中去除多余的油脂。第一步采用 Envirobeads S-X3 柱子用于农药/PCB 的净化。洗提溶剂为二氯甲烷，流速为 5mL/min。含有玉米油、邻苯二甲酸酯、甲氧滴滴涕、二萘嵌苯和硫的 GPC 校准标准的洗提时间进行检测。从样品萃取出来的柱子洗提液只是在邻苯二甲酸酯被洗提出来之前，即玉米油被洗提出来之后开始执行。收集的洗提液采用 TurboVap II 浓缩仪浓缩到 1mL，并且采用 70: 30 的醋酸乙酯: 环己烷重新制备到 10mL。然后这个萃取物被装载到 Optima™ GPC 柱子，移动相为 70: 30 的醋酸乙酯: 环己烷，采用 GPC AutoPrep 2000 系统进行洗提。大致的收集时间采用之前提到的 GPC 标准计算得到。收集在玉米油洗提之后开始，而在硫被洗提之前停止。收集的洗提液采用 TurboVap II 浓缩仪浓缩到 1mL，并且重新配制在 GC 分析可用的适当溶剂中。

### GC 和 GC/MS 分析

农药和 PCB 采用 Agilent 6890 系列气相色谱进行分析，配置一个 ECD 检测器和两根柱子，一根为 Restek Rtx®-CLPesticide，另一根为 Rtx-CLP2。半挥发性物质采用 Agilent 5973 GC/MS 配置一根 Restek Rtx-5 柱子。农药和 PCB 样品也采用 Agilent 6890 系列气相色谱配置 OI 分析仪器公司制造的 5360 型卤化物特定检测器 (XSD™) 进行分析。

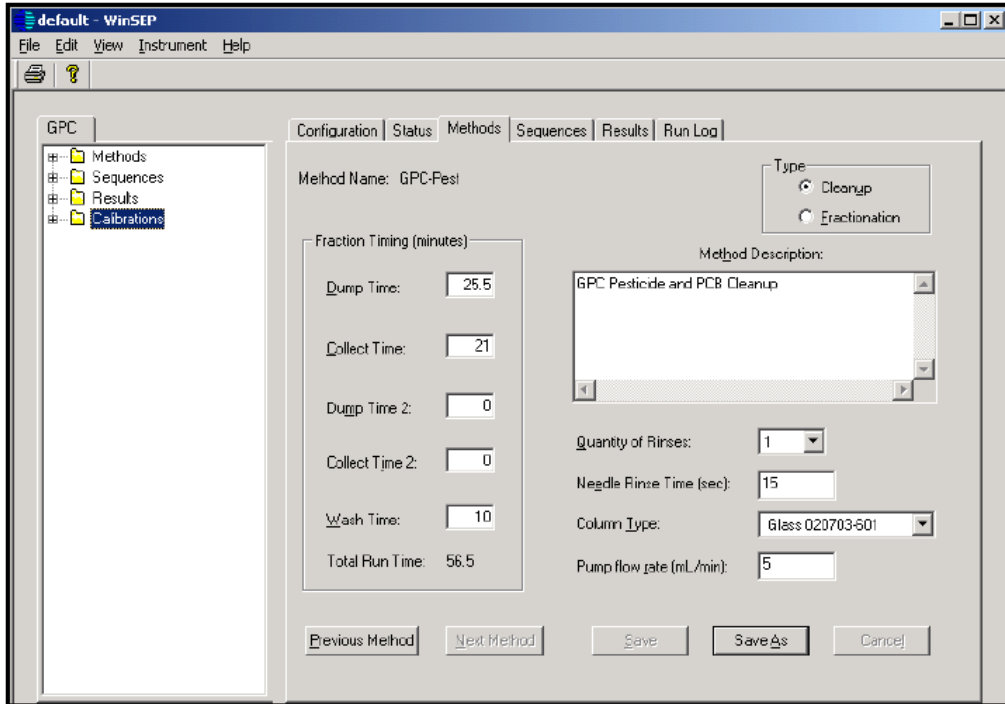


图 2 在 GPC AutoPrep 2000 仪器上，采用 Envirobeads S-X3 柱子净化鱼组织的 WinSEP 方法屏幕，显示了排放时间，收集时间和清洗时间

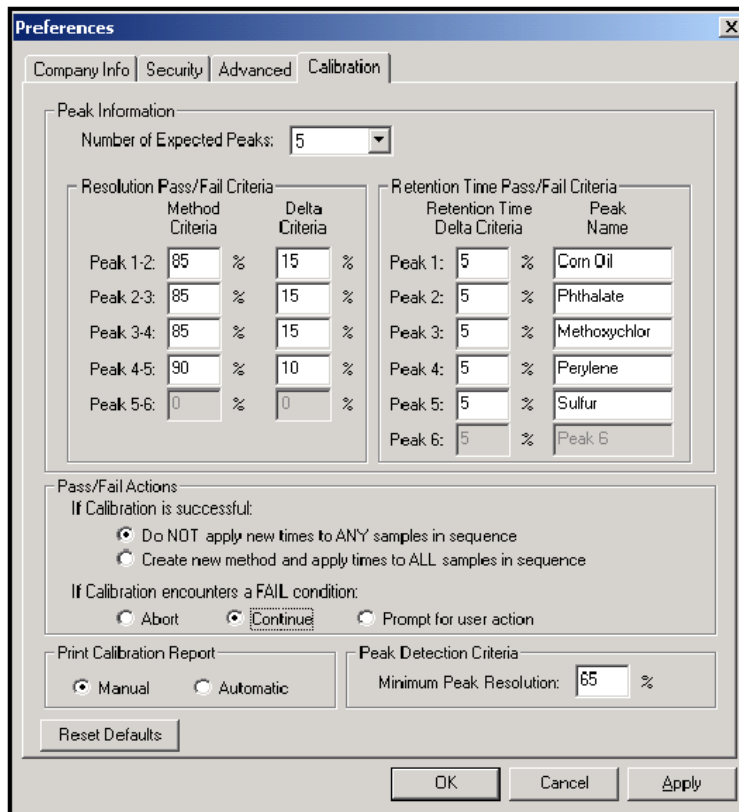


图 3 WinSEP 校准选项屏幕

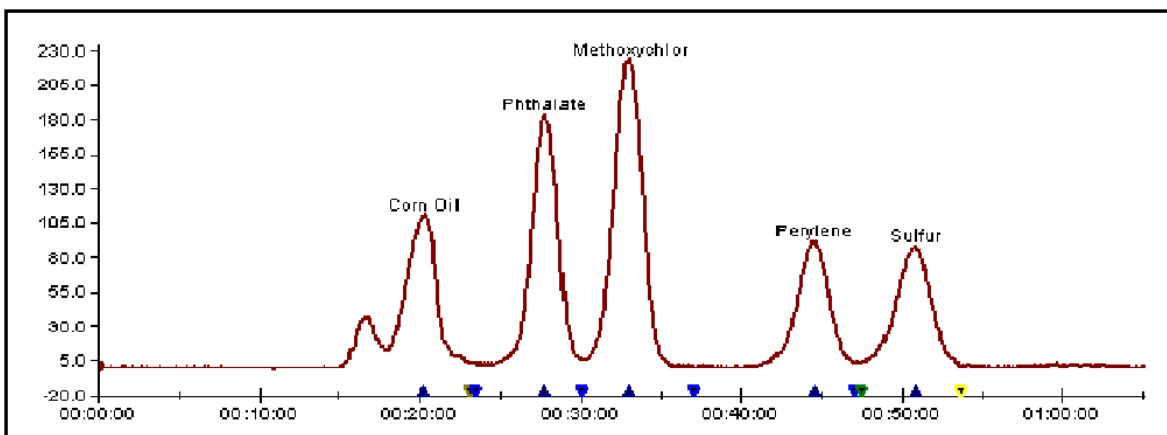


图 4 采用 Envirobeads S-X3 柱子，WinSEP 软件以及 UVD-1000 UV 检测器/图纸记录仪（254nm，1.000AUFS）得到的 USEPA GPC 校准标准的典型色谱图。流速为 5mL/min。

## 结果

表 1 采用 USEPA 校准标准计算得到的 GPC 净化参数

物质	排放时间	收集时间	清洗时间	总时间
农药/PCB	25.5 分钟	21.0 分钟	10.0 分钟	56.5 分钟
半挥发性	19.5 分钟	27.0 分钟	10.0 分钟	56.5 分钟

表 2 采用 GPC AutoPrep 2000 和 Envirobeads S-X3 柱子净化鱼样品得到农药的 GPC 回收率

农药	期望浓度 ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	实际浓度 ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	回收率 (%)	典型回收率 范围 (%)
4,4'-DDD	2.67	1.94	73	38-146
4,4'-DDE	2.67	2.44	91	35-149
4,4'-DDT	2.67	2.27	85	25-153
Aldrin	1.33	1.09	82	37-126
$\alpha$ -BHC	1.33	1.00	75	65-135
$\beta$ -BHC	1.33	1.13	85	41-133
$\delta$ -BHC	1.33	1.24	93	65-136
Dieldrin	2.67	2.07	78	32-142
Endosulfan II	2.67	2.33	87	65-169
Endosulfan sulfate	2.67	2.47	93	36-151
Endosulfan I	1.33	1.03	77	39-153
Endrin	2.67	2.18	82	33-144
Endrin aldehyde	2.67	2.03	76	65-160
Endrin ketone	2.67	2.41	90	23-134
$\gamma$ -BHC	1.33	1.01	76	63-130
Heptachlor	1.33	1.05	79	35-138
Heptachlor epoxide	1.33	1.03	77	43-144
Methoxychlor	13.3	11.6	87	63-152

表 3 采用 GPC AutoPrep 2000 和 Envirobeads S-X3 柱子净化鱼样品得到 PCB 的 GPC 回收率

PCB	期望浓度 ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	实际浓度 ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	回收率 (%)	典型回收率 范围 (%)
Aroclor 1016	33.3	35.3	106	50-150
Aroclor 1260	33.3	34.4	103	50-150

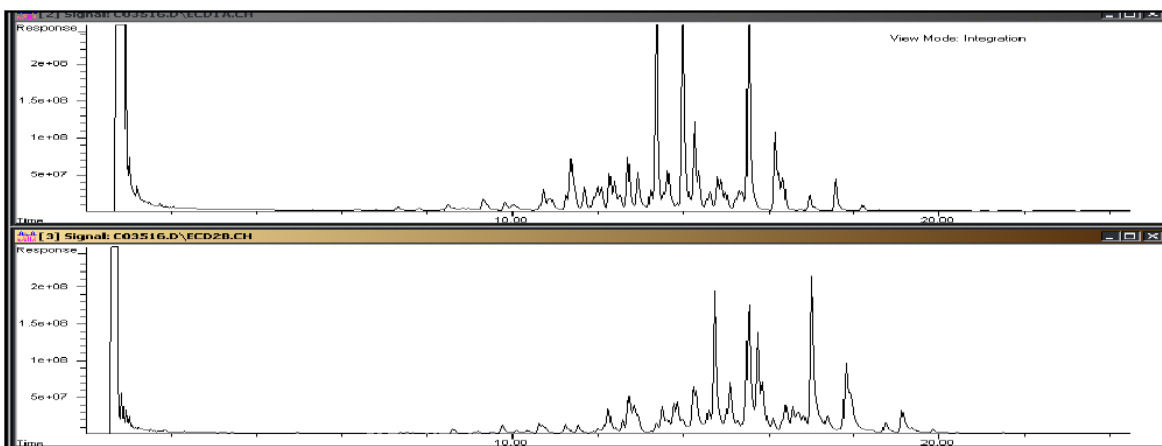


图 5 含有 Aroclor 1016 和 1260 的鱼样品的色谱 (GC/ECD)

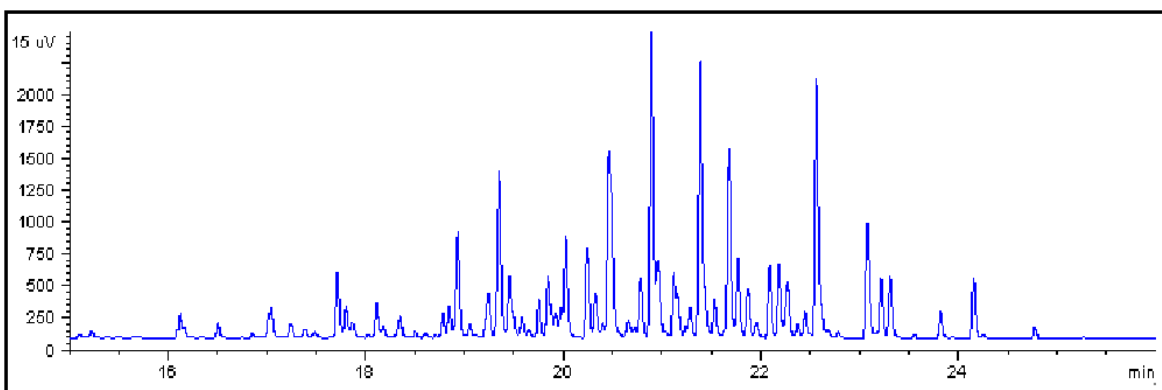


图 6 含有 Aroclor 1016 和 1260 的鱼样品的色谱 (GC/XSD) (不是图 5 所示的同一个样品)

表 4 采用 GPC AutoPrep 2000 和 Envirobeads S-X3 柱子净化鱼样品, 或者采用 Optima™ GPC 柱子, 移动相为 70: 30 的醋酸乙酯: 环己烷作为二级净化步骤, 得到的半挥发性物质的 GPC 回收率

分析物	百分回收率							
	净化 1 样品 1	净化 1 样品 2	净化 1 样品 3	平均	净化 2 样品 1	净化 2 样品 2	净化 2 样品 3	平均
二(2-氯乙基)乙基	86	88	91	88	67	89	112	89
酚	77	79	82	79	68	85	126	93
2-氯酚	77	81	84	81	62	87	110	86
1,3-二氯苯	75	78	84	79	52	74	83	70
1,4-二氯苯	75	79	82	79	55	76	85	72
1,2-二氯苯	75	78	80	78	54	76	87	72
苯甲醇	84	89	89	87	69	97	142	103

2,2'-氧代(1-氯丙烷)	88	88	91	89	69	95	111	92
2-甲基酚	82	85	86	84	68	93	133	98
六氯乙烷	80	81	88	83	59	79	93	77
N-亚硝基-二正-丙胺	89	89	90	89	65	94	127	95
4-甲基酚	79	84	84	82	64	92	133	96
硝基苯	85	87	90	87	77	103	132	104
异佛尔酮	84	85	89	86	61	87	130	93
2-硝基酚	77	83	88	83	61	92	122	92
2,4-二甲基酚	79	83	84	82	59	88	131	92
双-(2-溴代乙基)甲烷	86	88	92	88	66	93	137	99
2,4-二氯苯	81	84	86	83	61	88	141	97
1,2,4-三氯苯	82	86	89	85	65	90	119	91
萘	83	88	90	87	70	95	130	99
4-氯苯胺	86	84	94	88	68	88	133	96
六氯丁二烯	81	88	92	87	66	86	118	90
4-氯-3-甲基酚	85	86	90	87	71	86	149	102
2-甲基萘	84	87	90	87	69	92	139	100
六氯环戊二烯	87	93	92	91	75	95	156	109
2,4,6-三氯酚	81	88	88	86	65	85	153	101
2,4,5-三氯酚	83	92	91	89	77	93	153	107
2-氯萘	87	93	93	91	69	97	155	107
2-硝基苯胺	98	105	105	103	85	107	176	123
萘烯	84	89	90	88	69	92	144	102
二甲基邻苯二甲酸	88	93	95	92	75	95	166	112
2,6-二硝基甲苯	84	88	91	87	65	90	150	101
二氢萘	87	91	90	89	73	94	152	106
2,4-二硝基酚	59	67	77	68	54	52	93	66
二苯并呋喃	89	92	92	91	75	95	163	111
2,4-二硝基甲苯	83	88	87	86	71	89	149	103
4-硝酚	86	72	88	82	85	86	158	110
芴	84	90	89	88	74	90	152	106
4-氯苯醚	85	88	91	88	70	89	152	104
邻苯二甲酸二乙酯	90	94	95	93	84	101	172	119
4-硝基苯胺	94	89	97	93	69	88	150	102
4,6-二硝基-2-甲基酚	71	73	86	77	53	60	112	75
N-亚硝基二苯胺	87	92	95	91	78	99	168	115
4-溴苯醚	84	89	90	88	78	96	160	111
六氯苯	82	87	95	88	78	98	159	112
五氯酚	80	85	87	84	70	90	141	100
菲	84	88	91	88	82	98	160	113
蒽	83	86	88	86	80	96	157	111
咔唑	91	93	98	94	95	114	176	129
邻苯二甲酸二正丁基酯	95	115	103	104	104	121	185	136
萤蒽	86	89	93	89	95	110	165	123

芘	90	94	97	94	105	120	177	134
苝基邻苯二甲酸	97	99	105	100	116	125	191	144
3,3'-二氯联苯胺	73	66	74	71	60	59	80	66
苯并(a)蒽	87	92	96	92	108	122	173	134
Chrysene	86	92	96	91	103	119	171	131
邻苯二	116	113	117	115	229	226	369	275
甲酸二(2-乙基己)酯								
邻-苯二甲酸二辛酯	97	100	104	100	100	113	171	128
苯并(b)萤蒽	83	84	91	86	94	107	153	118
苯并(k)萤蒽	85	91	93	90	106	115	167	129
苯并(a)芘	83	88	93	88	94	109	160	121
茚并(1,2,3-c,d)芘	69	73	76	73	65	71	107	81
二苯并(a,h)蒽	79	85	93	86	89	98	152	113
苯并(g,h,i)二萘嵌苯	78	81	85	81	72	79	120	91

## 结论

在这项研究中，评估了采用 OI 分析仪器公司的 GPC AutoPrep 2000 仪器和 Envirobeads S-X3 柱子 在分析农药和 PCB 之前净化鱼组织的性能特性。鱼组织净化的回收率数据证明对于农药和 PCB 的分析是 足够的。回收率的范围从 73-106%，色谱图显示不存在干扰。

用于半挥发性有机物分析的鱼组织净化性能也进行了评估。需要执行二次 GPC 净化步骤以从某些类 型的鱼中去除多余的油脂，以便由 GC/MS 进行分析。进一步的研究正在进行以评估对于鱼类分析中，去 除大量油脂的最佳 GPC 净化技术。目前正在研究是否采用具有选择性的 GC 检测器，例如用于氯化物检 测的 XSD，以减少 GC 的干扰。

## 参考

Czuczwa, J.; Alford-Stevens, A. 优化凝胶渗透色谱对于土壤、淤泥、废弃物和废油样品萃取物 的净化，由 GC/MS 检测半挥发性有机污染物的程序。JAOAC, 1989 年 4 月提交 (参考 USEPA 方法 3640A)。

## 致谢

OI 分析仪器公司对于 A4 Scientific 公司的 Reddy Pakanati, Jason Lam, 和 John Njoroge, 在 这项研究中的贡献表示感谢。

Envirobeads 是 Bio-Rad Laboratories 公司的注册商标

Rtx 是 Restek 公司的注册商标

TurboVap 是 Zymark 公司的注册商标

Windows 是 Microsoft 公司的注册商标



P.O. Box 9010  
College Station, Texas 77842-9010  
Tel: (979) 690-1711 • FAX: (979) 690-0440 • www.oico.com