

高效液相色谱 – 串联质谱法测定纺织品中的 克萊范残留量

麦晓霞^{1*}, 周长征¹, 兰丽丽¹, 廖建萌², 徐敏¹, 曾丹丹²

(1. 广东出入境检验检疫技术中心, 广东 广州 510623; 2. 湛江市质量计量监督检测所, 广东 湛江 524022)

摘要:建立了高效液相色谱 – 串联质谱定量测定纺织品中克萊范(Kelevan)残留的分析方法。样品经甲醇 – 乙腈(1 : 1)混合溶液超声提取, 弗罗里硅柱净化, ESI 负离子模式下多反应监测(MRM)模式测定。待测物经 Hypersil GOLD C₁₈ 色谱柱分离, 以甲醇 – 5 mmol/L 乙酸铵溶液为流动相进行梯度洗脱, 外标法定量。结果显示, 克萊范在 1.0 ~ 200.0 μg/L 范围内线性关系良好, 定量下限(以信噪比 ≥ 10 计)为 0.025 mg/kg, 以 0.025、0.250、0.625 mg/kg 浓度进行加标后测得回收率为 90.6% ~ 103.4%, 相对标准偏差为 3.3% ~ 5.2%。本实验建立的方法简便、准确、可操作性强, 弥补了国内纺织品中克萊范检测方法的空白。

关键词: 克萊范; 纺织品; 液相色谱 – 串联质谱

中图分类号: O657.63; F767.2 文献标识码: A 文章编号: 1004 - 4957(2013)09 - 1069 - 06

doi: 10.3969/j.issn.1004 - 4957.2013.09.007

Determination of Kelevan Residue in Textiles by High Performance Liquid Chromatography – Tandem Mass Spectrometry

MAI Xiao-xia^{1*}, ZHOU Chang-zheng¹, LAN Li-li¹, LIAO Jian-meng², XU Min¹, ZENG Dan-dan²

(1. Guangdong Inspection and Quarantine Technology Center, Guangzhou 510623, China; 2. Guangdong Zhanjiang Supervision Testing Institute of Quality and Metrology, Zhanjiang 524022, China)

Abstract: A high performance liquid chromatography – tandem mass spectrometric (LC – MS/MS) method was developed for the determination of kelevan residue in textiles. The sample was ultrasonically extracted with methanol – acetonitrile(1 : 1) and the extract was purified with florisil column if necessary. The compound was separated on a Hypersil GOLD C₁₈ column (100 mm × 2.1 mm, 5 μm) with 20% methanol – 5 mmol/L ammonium acetate aqueous solution as mobile phase. The detection of kelevan was carried out by MS/MS with negative electrospray ionization under the multiple reaction monitoring mode using the external standard method. The calibration curve showed a good linearity in the range of 1.0 – 200.0 μg/L for the target compound. The limit of quantitation (S/N ≥ 10) was 0.025 mg/kg. The recoveries of kelevan in cotton sample ranged from 90.6% to 103.4% at the spiked levels of 0.025, 0.250, 0.625 mg/kg with relative standard deviations (RSDs) of 3.3% – 5.2%. With advantages of simplicity, accuracy and strong operability, the established method could be applied in the determination of kelevan in textiles.

Key words: kelevan; textiles; liquid chromatography – tandem mass spectrometry (LC – MS/MS)

有机氯农药大致可分为以氯苯或环二烯为原料制作而成的两大类。氯苯结构的有机氯农药稳定, 在生物体内难降解, 因此易在动、植物体内蓄积。在天然植物纤维如棉花等的种植过程中使用含氯有机农药会被纤维吸收, 虽然纺织品加工过程中可去除大部分被植物吸收的农药, 但仍有可能部分残留在最终产品上。残留在纺织品上的农药对人体的毒害作用因农业种类及残留量的多少而有较大区别, 部分有机氯农药极易经皮肤为人体所吸收, 对人体有很大的毒性^[1-3], 造成了潜在的健康威胁和生态环境的污染。

当前对有机氯农药的检测多采用气相色谱 – 质谱联用仪或带电子捕获检测器的气相色谱仪, 也有

收稿日期: 2013 - 02 - 07; 修回日期: 2013 - 05 - 12

基金项目: 国家检验检疫行业标准制定计划项目(2011B049); 广东出入境检验检疫局科研项目(2009GDK55)

* 通讯作者: 麦晓霞, 工程师, 研究方向: 纺织品检测中的色谱分析, Tel: 020 - 38290453, E-mail: maixx@iqtc.cn

很多有关纺织品中有机氯农药检测的文献报道^[4-12]和标准^[13-14]。近来, Oeko - Tex 国际环保纺织协会对 Oeko - Tex[®] 100 生态纺织品标准又进行了调整^[9], 农药禁用列表中增加了 6 种含氯有机农药, 分别为异艾剂 (Isodrin)、克萊范 (Kelevan)、开蓬 (Kepone)、乙滴涕 (Perthan)、氯化松节油 (Stroban) 和碳氯灵 (Telodrine), 对于第一级别产品的农药总量限量值为 0.5 mg/kg。目前对于纺织品中克萊范 (Kelevan) 的检测, 国内外尚无相关的方法和标准。因此, 为适应进口国家在贸易中的技术标准要求, 实现纺织行业的可持续发展, 保护我国出口纺织品的合法利益, 尽快建立一套我国自主开发的、具有国际水平的纺织品中克萊范的检测体系具有重要意义。

由于克萊范具有较大分子量 (634.8, 结构式见图 1), 不易气化, 其在气相色谱 - 质谱联用仪上的响应值很小, 在带电子捕获检测器的气相色谱仪上的灵敏度不高, 难以达到法规要求, 且由于克萊范是开蓬 (Kepone) 的衍生物, 检测中易受开蓬的干扰; 而克萊范在带有二极管阵列检测器和荧光检测器的液相色谱仪上均无响应, 本文最终选用液相色谱 - 串联质谱法对纺织品中克萊范进行检测, 通过对实验条件进行优化, 获得了较好的检出限与精密度, 能满足 Oeko - Tex[®] 100 的检测要求, 且方法操作简便、快速、准确、提取效率高, 对日常检测很有参考意义。

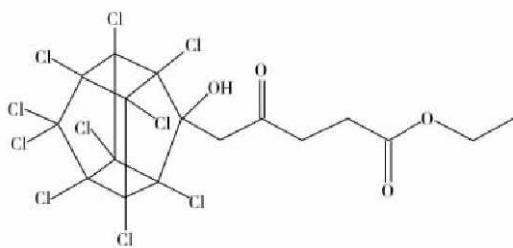


图 1 克萊范的分子结构

Fig. 1 Molecular structure of kelevan

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

TSQ Quantum Access 液相色谱质谱联用仪 (美国 Thermo Fisher); XS205 电子分析天平 (瑞士 Mettler Toledo); HU - 3120B 温控超声波提取器 (天津恒奥科技发展有限公司); SC - 18L - 150 数控固相萃取仪 (广州智真); VTX - 3000L 旋涡混合器 (日本 Vortex 公司); Ethos ONE 微波仪 (意大利 Milestone); Multi Reax 漩涡振荡器 (德国 Heidolph); SoxtecTM2050 溶剂萃取仪 (福斯); R - 210 旋转蒸发器 (瑞士 Buchi); Milli-Q 超纯水仪 (美国 Millipore 公司)。

克萊范标准样品 (Kelevan, CAS No.: 4234 - 79 - 1, 纯度为 97.0%, Dr. Ehrenstorfer); 甲醇、乙腈 (色谱纯, Tedia); 丙酮、乙醚、正己烷、乙酸铵 (分析纯, 广州化学试剂厂); 实验用水为 Milli-Q 纯水仪所制超纯水; Cleanert C₁₈ 柱、Cleanert 弗罗里硅柱、Cleanert 中性氧化铝柱 (500 mg/6 mL, 美国安捷伦科技有限公司)。

5 mmol/L 乙酸铵水溶液: 准确称取 0.19 g 乙酸铵溶于 500 mL 水溶液中, 用 0.2 μm 的滤膜过滤, 现用现配。

1.2 标准溶液的配制

准确称取适量的克萊范标准品, 用少量甲醇溶解后, 稀释定容到 100 mL 棕色容量瓶中, 配成浓度为 100 mg/L 的标准储备溶液, -18 °C 下贮存。使用时根据需要用甲醇 - 乙腈溶液 (1 : 1, 体积比) 将标准储备溶液配制为适当浓度的标准工作溶液。

1.3 仪器条件

1.3.1 液相色谱条件 色谱柱: Thermo, Hypersil GOLD C₁₈ 柱 (5 μm, 100 mm × 2.1 mm); 流动相: A 相为甲醇, B 相为 5 mmol/L 乙酸铵水溶液; 流速: 300.0 μL/min; 梯度洗脱程序: 0 ~ 4.0 min, 20% ~ 90% A; 4.0 ~ 7.0 min, 90% A; 7.0 ~ 7.1 min, 90% ~ 20% A; 7.1 ~ 10.0 min, 20% A。柱温: 25 °C; 进样体积: 10.0 μL。

1.3.2 质谱条件 检测模式: ESI 负离子, 多反应监测 (MRM); 电喷雾电压 (IS): -3 800 V; 离子源温度 (TEM): 350 °C; 鞘气 (雾化气) 压力: 45 psi; 辅助气 (GS2) 压力: 15 psi; 反吹气 (气帘气) 压力: 1.0 psi; 其余质谱检测条件见表 1。

表1 克萊范的质谱检测参数
Table 1 MS parameters for the determination of kelevan

Characteristic ions Q1/Q3 (<i>m/z</i>)	Scan time (s)	Scan width (s)	Tube lens offset (V)	Skimmer offset (V)	Collision pressure (psi)	Collision energy (eV)
633.0/97.2	0.02	0.1	84	8	1.5	45
633.0/426.5*	0.02	0.1	84	8	1.5	27
633.0/586.5	0.02	0.1	84	8	1.5	19

* quantitation ion

1.4 样品前处理

1.4.1 提取 称取 2.00 g 试样(5 mm × 5 mm 规格), 置于 50 mL 具塞反应玻璃管中, 加入 20 mL 甲醇-乙腈溶液(1:1), 涡旋混匀 1 min, 常温超声振荡 60 min(每隔 20 min 摇匀 1 次)。冷却至室温, 涡旋混匀后用定性滤纸过滤至 25 mL 容量瓶中, 再用 4 mL 甲醇-乙腈溶液(1:1)洗涤玻璃管以及管内残渣, 并将洗涤液过滤到容量瓶中。合并提取液, 定容至 25 mL, 混合均匀后取上层清液, 用 0.22 μm 的聚四氟乙烯薄滤膜有机系过滤头将其注射过滤至进样瓶中(若样品基质复杂, 可参照“1.4.2”方法选择性地对基质干扰较大的样品进行净化), 供液相色谱-串联质谱分析。

1.4.2 净化 取弗罗里硅土小柱, 依次用 5 mL 水和 5 mL 的甲醇活化, 用 5 mL 甲醇-乙腈(1:1)平衡后全量上样(提取液约 20 mL), 收集流出液, 用 0.22 μm 滤膜过滤。

1.5 测定

外标法定量。必要时采用基质加标的方法定量。克萊范的定性定量离子参见表 1。

2 结果与讨论

2.1 样品前处理过程的优化

2.1.1 萃取溶剂的选取 考察了甲醇、乙腈、甲醇-乙腈(1:3)、甲醇-乙腈(1:1)、甲醇-乙腈(3:1)、丙酮 6 种不同提取溶剂对含相同量标准溶液的测试样品的提取效率, 按照“1.4”步骤处理并检测。结果显示, 采用甲醇或者乙腈或丙酮等溶剂进行提取时的效果并不理想, 而采用甲醇-乙腈混合溶剂提取的效果较好, 其中以体积比为 1:1 的甲醇-乙腈混合溶剂的提取效果最好。一方面可能因为该比例的甲醇与乙腈混合溶剂对克萊范有最佳的溶解性; 另一方面混合溶剂对纺织品有更好的浸润效果, 从而提高了对克萊范的提取效率。因此, 实验采用甲醇-乙腈(1:1)混合溶剂进行提取。

2.1.2 提取方式的选择 分别对漩涡振荡、索氏抽提、微波萃取、超声波发生器超声 4 种提取方式进行比较, 结果表明, 采用超声波发生器超声方式的提取效果最佳, 索氏提取次之, 漩涡振荡提取和微波提取的回收率较低。此外, 超声波提取实验还具有操作简便、设备易普及等特点, 因此确定超声波提取为最佳提取方式。

2.1.3 提取时间与温度的选择 为获得最佳提取效率, 本文同时考察了超声时间及超声温度对提取效率的影响, 结果表明超声波提取 60 min 后, 继续增加提取时间对 Kelevan 的响应值无太大影响, 提取温度对提取效率影响不明显。因此本方法选择常温超声提取 60 min。

2.1.4 净化方式的选择 含有动物毛脂类样品, 或者经过染色和其他化学处理的纺织品, 提取液含有较多杂质, 对测定结果产生影响, 并易损害仪器, 因此必须进行净化。净化方式包括固相萃取柱以及基质加标法。

固相萃取柱净化法: 取 8 份含有动物毛脂类的纺织品作为基质, 向其添加相同量标准溶液, 按照“1.4.1”进行平行测试, 其中 1 份过滤后直接上机检测, 另外 3 份样品分别采用弗罗里硅柱、C₁₈ 柱、中性氧化铝柱按“1.4.2”方法净化后, 上机测定。样品经各柱子净化后的色谱图如图 2 所示。测试结果表明, 弗罗里硅柱的净化效果最好, 杂质峰数量最少, 回收率大于 90%。

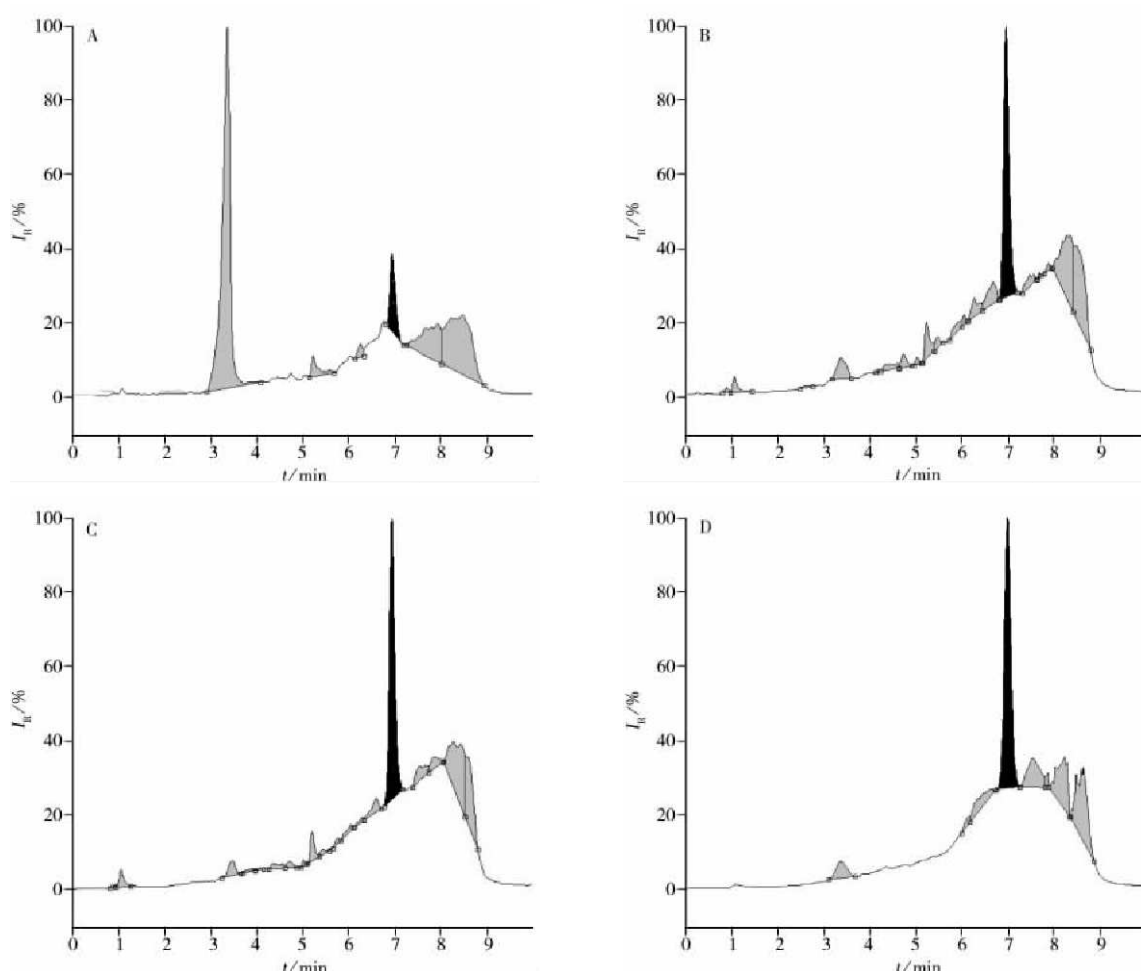


图 2 样品经不同柱子净化后的色谱图

Fig. 2 Chromatograms of sample treated with different columns

A. unpurified(未经净化柱净化); B. purified by C_{18} solid-phase extraction column(经 C_{18} 柱净化); C. purified by neutral alumina column(经中性氧化铝柱净化); D. purified by Florida silicon column(经佛罗里硅土柱净化)

基质加标法净化: 若复杂基质的样品检测为阳性, 当不能通过固相萃取柱净化时, 为准确定量, 可采用基质加标法或标准加入法进行定量^[15], 以减少基质对定量结果的影响。向空白复杂基质样品(如: 染色的布料, 成份组成为羊毛/棉/腈纶)和甲醇-乙腈(1:1)中分别加入一系列最终浓度分别为 1.0、2.0、5.0、10.0、20.0、50.0 $\mu\text{g/L}$ 的系列克莱范标准溶液, 采用“1.4”步骤处理后, 上机测定, 每组溶液平行测定 3 次, 结果如图 3 所示。从图中可以看出, 复杂基质对测定结果有影响, 在 1.0~50.0 $\mu\text{g/L}$ 范围内基质主要为负效应。因此对于复杂基质的阳性样品, 需采用基质加标方式定量。

2.2 MS/MS 条件的优化

配制 1.0 mg/L 克莱范标准溶液, 利用注射泵以 5 $\mu\text{L/min}$ 流速将其分别通过三通混合流动相后注入离子源, 分别在 ESI 源正离子和 ESI 源负离子的模式下进行全扫描监测, 扫描范围为 200~1 000 u , 结合克莱范的化学结构及分子量, 可以确认 m/z 633.0 为克莱范分子离子峰; 进一步对 ESI 离子源参数进行优化, 包括电喷雾电压、鞘气(雾化气)压力、辅助气(GS2)压力、反吹气(气帘气)和离子传输毛细管温度。以注射泵导入克莱范标准溶液, 仪器自动优化, 得到最优的离子源参数见“1.3.2”; 为使克莱范分子离子得到最有效的传输, 提高方法的灵敏度, 对管棱镜补偿电压和透镜电压进行优化;

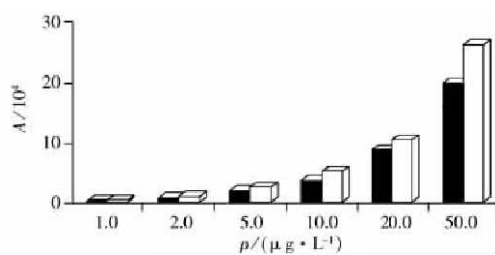


图 3 复杂基质溶液和空白溶液的比较

Fig. 3 Comparison between the complex matrix solution and the blank solution

■ matrix solution; □ methyl alcohol - alcohol (1 : 1)

最后对克萊范进行二级质谱扫描(见图4), 以稳定且相对丰度较高的离子 m/z 586.5 和 m/z 97.2 为定性离子, 丰度最高的离子 m/z 426.5 为定量离子。

2.3 线性关系与定量下限

将标准储备液配制成质量浓度分别为 1.0、2.0、5.0、10.0、20.0、50.0、100.0、200.0 $\mu\text{g/L}$ 的系列标准溶液, 按优化后的仪器条件进行测定, 外标法定量。以克萊范特征离子色谱峰面积为纵坐标(y), 对应质量浓度为横坐标(x , $\mu\text{g/L}$) 绘制标准曲线。结果显示, 克萊范在 1.0~200.0 $\mu\text{g/L}$ 范围内线性关系良好, 其相应的回归方程为 $y = 2\,400x - 1\,298$, 相关系数(r)为 0.999 9。图5为克萊范标准溶液的色谱图。

向空白样品中添加标准溶液, 按照“1.4”方法对样品进行处理后上机测定, 以信噪比 ≥ 10 时的含量为定量下限, 测得方法的定量下限为 0.025 mg/kg 。根据 Oeko-Tex[®] 100 生态纺织品标准规定杀虫剂在 I 类婴幼儿产品中最大限量为 0.5 mg/kg , 本方法的灵敏度可满足检测要求。

2.4 回收率与精密度

准确称取空白样品, 添加标准溶液进行回收率与精密度测试, 加标水平分别为 0.025、0.250、0.625 mg/kg , 按照“1.4”步骤进行克萊范的提取, 液相色谱-串联质谱法测定, 每个加标水平平行测定 6 次, 平均回收率及相对标准偏差(RSD)见表3。结果表明, 克萊范的加标回收率为 90.6%~103.4%, 相对标准偏差为 3.3%~5.2%, 说明方法的准确度和精密度可满足检测要求。

表3 不同加标水平下克萊范的回收率及相对标准偏差($n=6$)

Table 3 Recoveries and relative standard deviations(RSDs) of kelevan at different spiked levels($n=6$)

Spiked $w/(\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1})$	Recovery $R/\%$	RSD $s_r/\%$
0.025	94.1, 103.4, 91.2, 93.6, 101.0, 92.6	5.2
0.250	94.6, 93.2, 96.4, 96.7, 102.4, 98.2	3.3
0.625	92.5, 99.5, 90.6, 98.4, 97.3, 95.8	3.6

2.5 实际样品的检测

用所建立的方法对丝、涤纶、羊毛/棉、棉/尼等一批样品进行测试, 其中羊毛样品进行前处理后还需经固相萃取柱净化处理。结果显示, 实际样品中均未检出克萊范; 对一经过工厂加工的阳性棉布样品(往一空白棉布上添加克萊范标准溶液后, 再进行后整理的一块布料)进行检测, 检出克萊范含量为 0.076 mg/kg 。

3 结论

通过对前处理方法的优化, 建立了纺织品中克萊范残留检测的液相色谱-串联质谱法。该方法具有简单、快速、灵敏度高、净化效果好等特点, 用于实际样品的检测, 结果满意。该方法的建立可弥补国内纺织品中克萊范检测方法的空白, 有望作为日常检测方法。

参考文献:

- [1] Wu D S. *J. Environ. Health* (吴德生. 环境与健康杂志), 2001, 18(4): 201-203.
- [2] Ji Y M, Wang X W, Liang B C. *J. Agric. Catastrophol.* (姬艳梅, 王小文, 梁宝翠. 农业灾害研究), 2011, 1(2): 42-43.

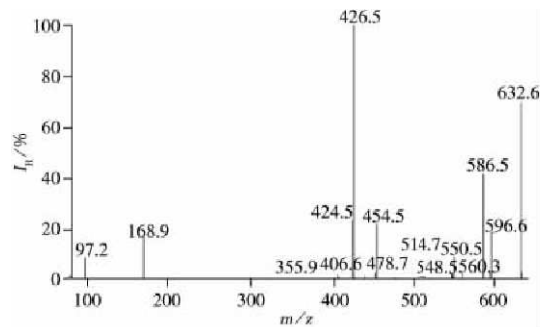


图4 Kelevan 的二级质谱图
Fig. 4 MS² spectrum of kelevan

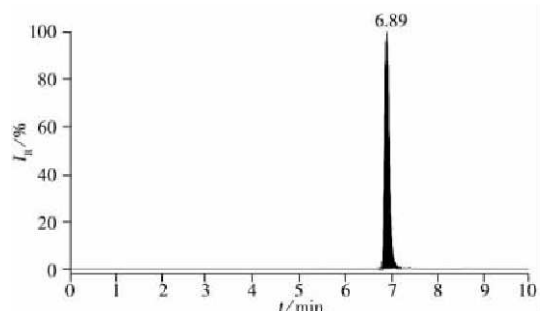


图5 Kelevan 标准溶液的色谱图
Fig. 5 Chromatogram of kelevan standard solution

- [3] Fielder H. Dioxin'93: 13th International Symposium on Chlorinated Dioxins and Related Compounds. Federal Environmental Agency Vienna, September 1993 Organohalogen Compounds, 13: 403–406.
- [4] Tong L, Huang Y Y, Zhang L J, Wu S Q. *Phys. Test. Chem. Anal: Chem. Anal.* (佟玲, 黄园英, 张玲金, 吴淑琪. 理化检验-化学分册), 2009, 45(7): 858–861.
- [5] Zhu H Y, Liu W Y, Ding X. *Chin. J. Chromatogr.* (朱恒怡, 柳文媛, 丁曦. 色谱), 2011, 29(8): 773–780.
- [6] Zhang X, Liao Q, Zhang Y. *Chin. J. Chromatogr.* (张翔, 廖青, 张炎. 色谱), 2007, 25(3): 380–383.
- [7] Piletsky S A, Piletskaya E V, Elgersma A V, Yano K, Karube I, Parhometz Y P, Elcskaya A V. *Biosens. Bioelectron.*, 1995, 10: 959–964.
- [8] Hu X Z, Chu X G, Yu J X. *J. Instrum. Anal.* (胡小钟, 储晓刚, 余建新. 分析测试学报), 2004, 23(5): 38–42.
- [9] Hu Y J. *China Fiber Inspection*(胡勇杰. 中国纤检), 2005, (8): 26–29.
- [10] Dai T C, Ni Y N, Lu P B. *Agrochemicals*(戴廷灿, 倪永年, 卢普滨. 农药), 2004, 4(9): 389–393.
- [11] Wang J P, Feng K E, Chen Z J. *Dyeing and Finishing*(王建平, 冯可儿, 陈志坚. 印染), 2004, 13: 31–35.
- [12] Wang J P, Zheng Y Y, Wu L. *Dyeing and Finishing*(王建平, 郑宇英, 吴岚. 印染), 2007, (19): 48–50.
- [13] GB/T 18412.2–2006. Textiles – Determination of the Pesticide Residues – Part 2: Organochlorine Pesticides. National Standards of the People's Republic of China(纺织品农药残留量的测定 第2部分: 有机氯农药. 中华人民共和国国家标准).
- [14] Oeko-TEX 100, 2012. (国际环保纺织协会之规范性文件 100, 2012年版).
- [15] He L M, Liu X G, Zeng Z L. *Chin. J. Chromatogr.* (贺利民, 刘祥国, 曾振灵. 色谱), 2008, 26(1): 98–104.

(上接第1068页)

- [11] Zhao Q. *The Research on Ligand-Protein Interaction Using Molecular Docking*. Wuxi: Jiangnan University(赵琦. 基于分子对接技术的小分子-蛋白质相互作用研究. 无锡: 江南大学), 2009.
- [12] Lakowicz J R. *Principles of Fluorescence Spectroscopy*. 3rd ed. Beijing: Science Press, 2008.
- [13] Lakowicz J R, Weber G. *Biochemistry*, 1973, 12(21): 4161–4170.
- [14] Jiang C Q, Gao M X, He J X. *Anal. Chim. Acta*, 2002, 452(2): 185–189.
- [15] He W Y, Li Y, Si H Z, Dong Y M, Sheng F L, Yao X J. *J. Photochem. Photobiol. A*, 2006, 182(2): 158–167.
- [16] Wang N, Liu Z Y, Hu X L, Bu F Q, Zhao X Z. *Chem. J. Chin. Univ.* (王宁, 刘忠英, 胡秀丽, 卜凤泉, 赵学忠. 高等学校化学学报), 2011, 32(2): 241–245.
- [17] He W Y, Hu Z D, Yao X J, Chen G Y. *Acta Chim. Sin.* (何文英, 胡之德, 姚小军, 陈光英. 化学学报), 2010, 68(7): 679–688.
- [18] Scatchard G. *General & Introductory Life Sciences*, 1949, 51(4): 660–672.
- [19] Kraak J C, Busch S, Poppe H. *J. Chromatogr.*, 1992, 608(1/2): 257–264.
- [20] Bian W, Wei Y L, Wang Y P, Dong C. *Spectrosc. Spectral Anal.* (卞伟, 卫艳丽, 王亚萍, 董川. 光谱学与光谱分析), 2006, 26(3): 505–508.
- [21] Yan C N, Shanguan Y F, Tong J Q, Liu Y, Pang D W, Pan Z T, Qu S S. *Spectrosc. Spectral Anal.* (颜承农, 上官云凤, 童金强, 刘义, 庞代文, 潘祖亭, 屈松声. 光谱学与光谱分析), 2003, 23(3): 543–546.
- [22] Ross P D, Subranabian S. *Biochemistry*, 1981, 20(11): 3096–3012.
- [23] Zhang G W, Que Q M, Pan J H, Guo J B. *J. Mol. Struct.*, 2008, 881(1/3): 132–138.
- [24] Lin H, Lan J F, Guan M, Sheng F L, Zhang H X. *Spectrochim. Acta Part A*, 2009, 73(5): 936–941.
- [25] Yuan T, Werijie A M, Vogel H J. *Biochemistry*, 1998, 37(9): 3187–3195.
- [26] Liu N F, Qu L B, Xiang B R, Yang R. *Acta Pharm. Sin.* (柳乃方, 屈凌波, 相秉人, 杨冉. 药学学报), 2009, 44(2): 140–144.
- [27] Mir R, Singh N, Vikram G, Kumar R P, Sinha M, Bhushan A. *Biophys. J.*, 2009, 97(12): 3178–3186.