

基于电子鼻和 HS-SPME-GC-MS 方法研究 海水中七氯的快速检测技术*

何红萍¹ 周君¹ 李晔¹ 张春丹¹ 黄健²
缪芳芳¹ 苏秀榕¹ 李太武³

(1. 宁波大学海洋学院 宁波 315211; 2. 北京普析通用仪器有限责任公司 北京 101200;
3. 宁波城市职业技术学院 宁波 315100)

提要 为了建立海水中有机氯农药的快速检测技术, 本文基于电子鼻和顶空固相微萃取气质联用法(HS-SPME-GC-MS)对海水中的七氯进行检测。结果表明, 电子鼻可以识别海水中的挥发性七氯成分及浓度, 最低检测限 0.01mg/L。利用线性判别分析方法(LDA)的累计判别贡献率和欧氏距离、判别函数法、相关性对未知样品的识别率均达到了 80%以上, 具有良好的区分效果; PLS 模型预测七氯浓度跟实际值之间的相对误差在 0.49%—16%之间。HS-SPME-GC-MS 检测浓度小于 0.10mg/L 时, 相对误差在 10%左右; 而大于此浓度时, 相对误差随之增大。检测到的主要挥发性物质基本呈现规律性的变化, 与电子鼻确认结果一致。对比两种检测技术, 发现电子鼻检测方法比 HS-SPME-GC-MS 更迅速、灵敏, 检测限更低, 相对误差也更小, 仪器便携、投资相对较小。

关键词 七氯; 顶空固相微萃取-气质联用; 电子鼻; 定性和定量

中图分类号 P734.4

有机氯农药(Organochlorine pesticides, OCPs)是环境中一类难降解的有毒化合物, 属于持久性有机污染物(POPs), 是《斯德哥尔摩公约》中第一批规定需要消除的持久性有机物。有机氯类化合物性质稳定, 不易分解, 在水中溶解度小, 但易溶于有机溶剂, 进入人体后有蓄积作用, 可抑制中枢神经系统, 严重中毒时会损害肝脏和肾脏(杨丽莉等, 2007)。有机氯农药——七氯由于杀虫效果显著, 曾是全国普遍使用的农药杀虫剂之一, 但因其半衰期长, 化学性质稳定, 不易降解和代谢, 能残留在水溶液中, 并能产生蓄积。因此研究水中氯苯类化合物与有机氯农药的监测方法非常必要(彭敏等, 2008)。采用色谱方法(蒋永祥等, 2007)进行有机农药残留检测研究。该方法是近年来的研究热点, 检测数量已发展到几十种甚至几百种, 费用昂贵, 前处理复杂, 不能随船检测, 时间较

长。因此, 发展一种快速、高效的检测方法显得非常重要。电子鼻是一种化学传感器, 是能够感知和识别气味的电子系统, 即电子嗅觉系统。一般由气敏传感器阵列、信号处理系统和模式识别系统等 3 大部分组成。工作时, 挥发性物质分子被气敏传感器阵列吸附, 产生信号, 并被送到信号处理子系统进行加工, 最终由模式识别子系统对信号处理的结果做出综合判断。目前, 电子鼻已经发展为一种简单、快速和便携式挥发性物质的检测系统。样品不需要复杂的预处理过程, 测定评估范围广, 可以得到不同挥发性物质/气味的数字化“指纹”, 并将待测样本和标准样本的“指纹”进行比较, 然后给出分析结果(杜锋等, 2003; De Cesare *et al*, 2008; El Barbri *et al*, 2008)。据报道, 有学者利用电子鼻对茶叶(周亦斌等, 2004)、柑橘(胡桂仙等, 2005)、劲酒(周海涛等, 2009)、稻米(胡桂仙等, 2011)、

* 海洋公益性行业科研专项经费资助项目, 201005016 号; 宁波大学学科项目, 2010597 号。何红萍, 硕士研究生, E-mail: hp8821@126.com

通讯作者: 苏秀榕, 教授, 博士生导师, E-mail: suxiurong@nbu.edu.cn

收稿日期: 2013-04-17, 收修改稿日期: 2013-07-11

猪肉(Wang *et al.*, 2012)等方面的检测研究,也有对香菇中甲醛(庞林江等, 2009)和挥发性氯代烃(卜凡阳等, 2011)的研究,但并未涉及对有机氯农药的电子鼻检测的相关研究。本文利用电子鼻检测陆源排污口海水中的七氯,用线性判别式分析(LDA)、判别因子分析(DFA)和最小线性回归定量分析(PLS)法建立模型对结果进行定性定量研究,并利用顶空固相微萃取-气质联用(HS-SPME-GC-MS)进行验证,以便建立电子鼻检测有机氯农药的简便、快速、准确、灵敏的方法。

1 材料与方 法

1.1 材 料

15mL 螺纹口样品瓶、手动 SPME 进样器、65 μ m 聚二甲基硅氧烷/二乙烯苯(PDMS/DVB)涂层萃取头购于美国 SUPELCO 公司。标准品七氯,浓度为 100 μ g/mL,购自农业部环境保护科研监测所。1 号海水取自浙江省象山墙头排污口,2 号海水取自距该排污口 50m 以外的海域。

1.2 方 法

1.2.1 样品制备 量取 10 μ L 的七氯标准品分别用 1 号和 2 号海水定容至 1mL,配成 1mg/L 的标准储备液,根据实际需要,逐级稀释成不同水平的标准工作溶液。最终使海水中的七氯浓度为 0.01、0.05、0.10、0.50、1.00mg/L 和空白对照组,总体积均为 1mL,旋紧瓶盖。

1.2.2 电子鼻测定 将各浓度样品在 55 $^{\circ}$ C 恒温水浴中加热 30min,室温下冷却 15min,使瓶中顶空气体平衡后用电子鼻(PEN 3,梅克伦堡州, Airsense 公司,德国)检测,数据采集时间为 200s,清洗时间为 300s,进气量为 300mL/min。每组做 5 个平行样品。

数据分析:采用 LDA 法,马氏距离、欧氏距离、相关性、判别函数法和 PLS 法进行分析。

1.2.3 HS-SPME-GC-MS 测定

1.2.3.1 萃取 将萃取头(65 μ m PDMS,美国 Sigma 公司)在气相色谱的进样口老化,温度 250 $^{\circ}$ C,老化时间 0.5h 后,插入样品瓶于 55 $^{\circ}$ C 水浴吸附 30min,然后插入气质联用仪(GC-MS,美国安捷伦科技公司,北京普析通用仪器有限责任公司),进样口于 220 $^{\circ}$ C 解吸附 5min,启动气质联用仪采集数据。

1.2.3.2 HS-SPME-GC-MS 分析

色谱条件:DB-5 毛细管色谱柱(30 m \times 0.25 mm \times 2.5 μ m);载气 He,流速 1mL/min;不分流模式进样,进样时间 3min,恒流 1mL/min;进样口温度:220 $^{\circ}$ C;

程序升温:起始柱温 100 $^{\circ}$ C 保持 3min,20 $^{\circ}$ C/min 升至 200 $^{\circ}$ C,保留 15min,再以 10 $^{\circ}$ C/min 升至 250 $^{\circ}$ C,保持 10min。

质谱条件:离子源为电子轰击源(EI),电离电压 70eV,离子源温度 250 $^{\circ}$ C,传输线温度为 250 $^{\circ}$ C,扫描范围 45—450u。

数据分析:通过计算机检索 NIST 谱库进行未知物质匹配,对谱库中化合物相似度高于 80%的组分加以标定,按照峰面积归一化法计算各组分相对百分含量。

2 结果与分析

2.1 电子鼻检测

2.1.1 七氯浓度梯度指纹的构建 图 1 和图 2 是样品的电子鼻 LDA 分析结果,其中每个椭圆代表一个检测到的七氯浓度。图中,横坐标、纵坐标分别表示在 LDA 转换中得到的 LD1(判别函数 1)和 LD2(判别函数 2)的贡献率,贡献率越大,说明判别函数可以很好地反映原来的多指标的信息。一般情况下,总贡献率超过 80%的方法即可使用。图 1 中线条上方和下方分别为 1 号和 2 号海水配制的七氯样品浓度指纹图谱,判断函数 LD1、LD2 分别为 58.20%、28.26%,总贡献率为 86.46%,可以判定特征性信息。图 2 为 2 号海水配制的七氯样品浓度指纹图谱,判断函数 LD1、LD2 分别为 82.38%和 11.86%,总贡献率为 94.24%,较图 1 有更好的判别效果。七氯浓度在 LDA 分析图中呈现有一定的聚类特性,按照浓度梯度形成了空间分布指纹图谱。

2.1.2 利用模型识别未知样品中七氯的浓度 分别取不同七氯浓度的海水作为未知样品,利用电子鼻进行检测,数据用判别函数(DFA)法来与已知浓度指纹进行匹配。从图 3 可以看出,不同浓度的待测样品的气味曲线(图中黑色线条)穿过指纹中各自浓度样品的气味数据,找到和自己相同浓度的点。

同时用欧氏距离、判别函数法、相关性、马氏距离的识别率分别为 93.33%、93.33%、86.67%和 43.33%。欧氏距离、判别函数法的识别率较高,马氏距离最差。欧氏距离和相关性模型可以识别 0.01—1.00mg/L 浓度的七氯;而马氏距离的识别率随着七氯浓度的增高而明显增加,1mg/L 浓度的识别率最高(见表 1)。

2.1.3 PLS 法预测七氯的浓度
偏最小二乘法 (Partial Least Square method, PLS 法) 是传感器信号计算量化表达式, 它应用经过训练的模型对一个给定的变量计算向量, 根据不同的需要, 定义不同的量化变量 (黄健等, 2012)。表 2 为 2 号样品中七氯浓度的 PLS 模型的预测结果与真实值的比较。研究发现: 当浓度小于 1.00mg/L 时, 绝对误差最大为 0.074, 相对误差最大达到 16%; 当浓度等于 1.00mg/L 时, 相对误差低至 0.49%。说明当浓度水平大于 0.01mg/L 时, PLS 可以精确预测未知样品中的七氯浓度。预测浓度水平跟实际值之间的绝对误差在 0.00050—0.074 之间, 相对误差在 0.49%—16% 之间。

2.2 HS-SPME-GC-MS 验证电子鼻检测的结果

2.2.1 海水成分的检测 本文采用 Scan 全扫描对各样品峰进行定性分析, 经 NIST 和 WILEY 谱库检索, 1 号样品中的挥发性物质有 4 类物质, 其中, 酚类物质占 79.09%, 烯类物质占 14.41%, 酯类和烷烃类占很小的比例。2 号样品中的挥发性物质有 2 类, 主要为酯类, 相对含量 88.83%。两种样品中均不存在七氯 (见表 3)。

为了确认影响电子鼻判定的挥发性物质, 对 GC-MS 检测到的物质进行分类和峰面积比较。图 4 是不同七氯浓度下 2 号海水成分的 GC-MS 峰面积比较分析图。主要的影响物质可分为七氯、酯类、酮类和酚类四大类。随着浓度的减小, 七氯的峰面积呈降低趋势, 酯类的峰面积呈增加趋势。

2.2.2 回收率 用 2 号样品浓度为横坐标、峰面积为纵坐标绘制标准曲线。其中, 回归方程是 $y = 287806x - 1201$, $R^2 = 0.99$ 。表 4 为根据方程所得的定量值、相对误差和回收率。在小于 0.10mg/L 浓度水

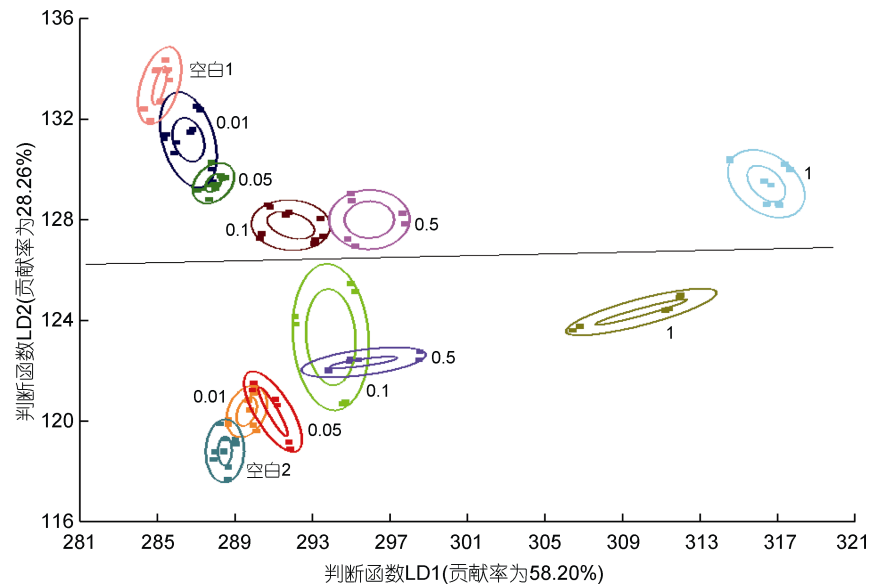


图 1 两种海水中七氯浓度的 LDA 分析

Fig.1 LDA for Heptachlor concentrations in two kinds of seawater
图中除空白组以外, 单位均为 mg/L。下同

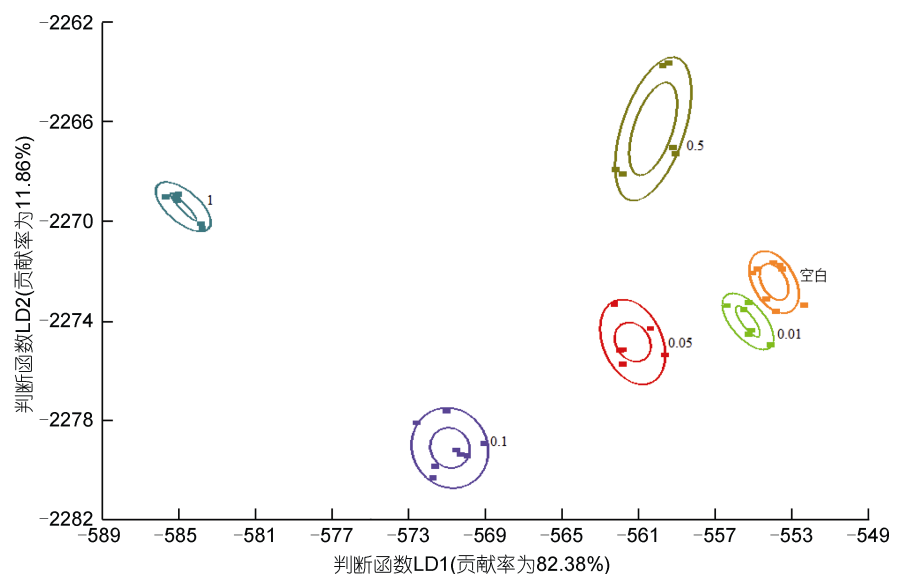


图 2 2 号海水中七氯浓度的 LDA 分析

Fig.2 LDA for different concentrations Heptachlor in No.2 seawater

平时, 相对误差均小于 10%; 大于 0.10mg/L 浓度水平时, 相对误差随着增大。回收率均随着浓度的增大而减小。

3 讨论

运用电子鼻的传感器测定挥发性物质的指纹数据, 确定它们之间的差别, 可以用来鉴别样品中挥发性物质的变化。如检测鲈鱼 (郑平安等, 2013)、鲤鱼 (全晶晶等, 2012) 以及食用油 (孙静等, 2013) 等食品的风

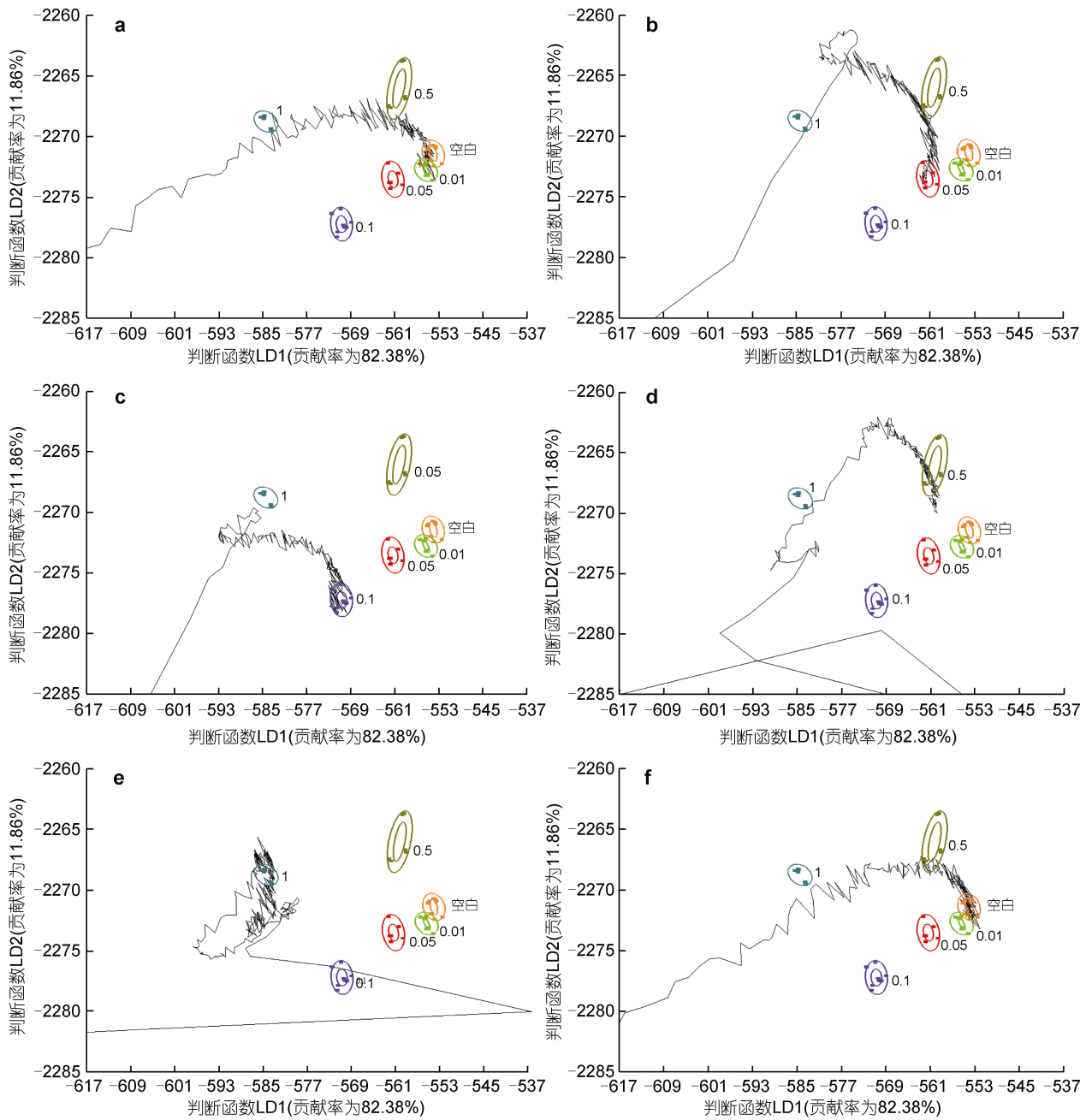


图 3 利用判别函数对不同浓度七氯样品的识别结果

Fig.3 The recognition results of Heptachlor samples with different concentrations using discriminant function
a. 0.01mg/L; b. 0.05mg/L; c. 0.10mg/L; d. 0.50mg/L; e. 1.00mg/L; f. 空白组

味物质变化。本文通过电子鼻可以灵敏地检测到海水中七氯浓度的差异，先用 LDA 法建立数字指纹图谱，两种判断函数的总贡献率均在 80% 以上；后用模型识别未知样品中的七氯浓度；再进一步运用欧氏距离、马氏距离、相关性、判别函数法对不同样品进行鉴别，对电子鼻检测结果进行了有效的定性；然后建立 PLS 预测模型，对电子鼻的识别结果进行定量预测。

利用 HS-SPME-GC-MS 检测海水中七氯浓度小

于 0.10mg/L 时，相对误差均小于 10%。浓度为 0.50mg/L 和 1.00mg/L 时，相对误差随着增大。而电子鼻 PLS 模型的预测值的相对误差区间为 0.49%—16%，与前者的检测结果相比，误差更小，达到较准确的定量效果，可以用来做浓度的分析。进一步对影响电子鼻判别的挥发性物质进行确认，四类物质不同程度的影响了判别效果，七氯的峰面积值基本上都是随着浓度的增大而增大，酯类物质的峰面积值则呈相反趋

表 1 4 种模型对不同浓度七氯的识别结果

Tab.1 Four kinds of models for different concentrations of Heptachlor recognition results

浓度水平(mg/L)	识别结果			
	欧氏距离	马氏距离	相关性	判别函数法
对照组	+++++	++	+++++	+++++
0.01	+++++	++++	++++	++++
0.05	++++	+++	++++	++++
0.10	+++++	+++	++++	+++++
0.50	++++	+	++++	+++++
1.00	+++++	++++	+++++	+++++
识别率	93.33%	43.33%	86.67%	93.33%

“+”表示识别程度

表 2 PLS 预测未知样品的七氯浓度

Tab.2 Prediction result of PLS to unknown concentration Heptachlor

浓度水平(mg/L)	预测值(mg/L)	绝对误差	相对误差(%)	浓度水平(mg/L)	预测值(mg/L)	绝对误差	相对误差(%)
空白	- 0.0148	0.015	—	0.10	0.1065	0.0065	6.5
	- 0.0072	0.0072	—		0.1096	0.0096	9.6
	0.0165	0.017	—		0.0872	0.013	13
0.01	0.0112	0.0012	12	0.50	0.4320	0.068	14
	0.0114	0.0014	14		0.5726	0.073	7.3
	0.0113	0.0013	13		0.4263	0.074	15
0.05	0.0579	0.0079	16	1.00	1.0063	0.0063	0.63
	0.0495	0.00050	1.0		0.9645	0.036	3.6
	0.0558	0.0058	12		1.0049	0.0049	0.49

表 3 海水中挥发性物质的 HS-SPME-GC-MS 分析结果

Tab.3 HS-SPME-GC-MS analysis result of volatile substance in seawater

样品	组分	含量(%)
1 号样品	1,3,7,7-四甲基-9-氧-2-氧杂二环(4,4,0)-癸-5-烯	14.41
	2,4-二(1-叔丁基)苯酚	79.09
	2-甲基丙酸-1-(1,1-叔丁基)-2-甲基-1,3-丙二酯	2.26
	8-丙氧基柏木烷	1.87
	1-碘十二烷	2.37
	七氯	—
	2 号样品	磷酸三丁酯
2-三氟甲基苯甲酸-6-乙基-3-辛酯		21.79
1,2-苯二羧酸-二(2-甲丙基)酯		12.80
钛酸二乙酯		3.13
4-氨基-4,5(1H)-二氢-1,2,4-三唑-5-酮		11.17
七氯		—

“—”表示未检出

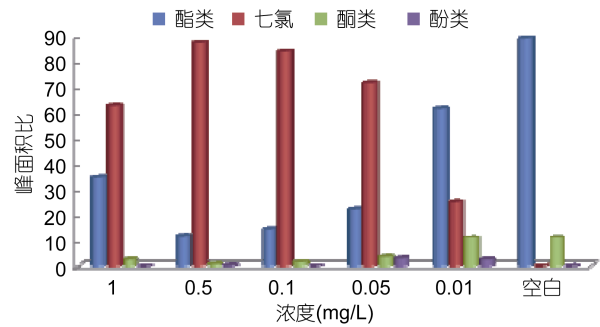


图 4 2 号海水中干扰物质对七氯浓度分析的影响作用

Fig.4 The effect of interfering substance on Heptachlor concentration in the No.2 seawater

势, 其它两类物质的变化很微小。虽然 1.00mg/L 高浓度组中七氯含量较 0.50mg/L 有小幅降低, 酯类的含量有增高, 可能是萃取头对过高浓度的物质吸附过饱和, 但整体水平上还是表现出了不同。不同物质的影响结果与 LDA 图中的位置分布相一致, 验证了电子鼻判别的准确性。

表4 GC-MS检测方法的回收率
Fig.4 The recovery rate of GC-MS detection method

浓度水平(mg/L)	定量值(mg/L)	相对误差(%)	回收率(%)	浓度水平(mg/L)	定量值(mg/L)	相对误差(%)	回收率(%)
对照	0.000	—	—	0.10	0.10	0.0	100.0
0.01	0.011	10	110.0	0.50	0.38	24	76.0
0.05	0.046	8.0	92.0	1.00	0.83	17	83.0

参 考 文 献

- 卜凡阳, 文晓刚, 万梅等, 2011. 电子鼻检测污染土壤中挥发性氯代烃的适用性研究. 环境科学, 32(12): 3641—3646
- 全晶晶, 侯云丹, 黄健等, 2012. 加工温度对鲢鱼挥发性成分的影响. 中国食品学报, 12(8): 221—228
- 孙静, 黄沁怡, 李芳等, 2013. 应用化学传感器和 GC-MS 研究加热温度与大豆油挥发物质的关系. 中国粮油学报, 28(1): 122—128
- 杜锋, 雷鸣, 2003. 电子鼻及其在食品工业中的应用. 食品科学, 24(5): 161—163
- 杨丽莉, 母应锋, 姚诚等, 2007. 毛细管气相色谱法测定水中氯苯类化合物. 环境监测管理与技术, 19(2): 34—38
- 周亦斌, 王俊, 2004. 新技术在茶叶品质评价中应用的现状及趋势. 茶叶科学, 24(2): 82—85
- 周海涛, 殷勇, 于慧春, 2009. 劲酒电子鼻鉴别分析中传感器阵列优化方法研究. 传感技术学报, 22(2): 175—178
- 庞林江, 王允祥, 王俊等, 2009. 电子鼻技术在香菇甲醛识别中的应用. 食品与机械, 25(3): 101—102
- 郑平安, 孙静, 全晶晶等, 2013. 贮藏温度对鲢鱼品质的影响研究. 核农学报, 27(1): 75—80
- 胡桂仙, Antihus Hernández Gómez, 王俊等, 2005. 电子鼻无损检测柑橘成熟度的实验研究. 食品与发酵工业, 31(8): 57—61
- 胡桂仙, 王俊, 王建军等, 2011. 基于电子鼻技术的稻米气味检测与品种识别. 浙江大学学报(农业与生命科学版), 37(6): 670—676
- 黄健, 王霞, 侯云丹等, 2012. 加热温度对牡蛎挥发性风味成分的影响. 核农学报, 26(2): 0311—0316
- 彭敏, 周亚民, 祝慧, 2008. 饮用水中氯苯类化合物的吹扫捕集与气相色谱-质谱联用测定法. 环境与健康杂志, 25(3): 253—254
- 蒋永祥, 叶丽, 汤淼荣, 2007. 茶叶中7种有机磷农药残留量的同时测定. 分析实验室, 26(1): 97—101
- De Cesare F, Pantalei S, Zampetti E *et al*, 2008. Electronic nose and SPME techniques to monitor phenanthrene biodegradation in soil. Sensors and Actuators B: Chemical, 131(1): 63—70
- El Barbri N, Llobet E, El Bari N *et al*, 2008. Application of a portable electronic nose system to assess the freshness of Moroccan sardines. Materials Science and Engineering C, 28(5): 666—670
- Wang D, Wang X, Liu T *et al*, 2012. Prediction of total viable counts on chilled pork using an electronic nose combined with support vector machine. Meat Science, 90(2): 373—377

THE METHOD RESEARCH OF HEPTACHLOR IN SEAWATER BY COMBINATION OF ELECTRONIC NOSE AND HS-SPME-GC-MS

HE Hong-Ping¹, ZHOU Jun¹, LI Ye¹, ZHANG Chun-Dan¹, HUANG Jian²,
MIAO Fang-Fang¹, SU Xiu-Rong¹, LI Tai-Wu³

(1. School of Marine Sciences, Ningbo University, Ningbo, 315211; 2. Beijing Purkinje General Instrument Co., Ltd., Beijing, 101200; 3. Ningbo College of Vocational Technology, Ningbo, 315100)

Abstract To establish rapid detection technology of Organochlorine pesticides in seawater in this paper, based on Electric nose and headspace-solid phase micro-extraction (HS-SPME) coupled with gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS), detect the different concentrations in seawater. The results showed that electric nose can be used to distinguish the volatile components and concentration of Heptachlor in different seawater, and the lowest detectable limit reached 0.01mg/L. The accumulative contribution rate of discrimination of LDA and the recognition rate were both achieved to over 80% among the test methods like Euclidean distance, discriminant function method and correlations, the analysis detected well. In PLS model, the relative error between Heptachlor concentration of the prediction and the actual value was between 0.49% to 16%. The relative error was less than 10% in the HS-SPME-GC-MS detection, less than 0.1mg/L concentration level; the relative error increased when the sample was more than 0.1mg/L levels. The main volatile substances detected showed predictable changes, consistent with the confirmation results by electronic nose. Comparing the two kinds of detection technology, results show that the electronic nose detection is more rapid, sensitive, lower detection limit and the relative error is smaller. Besides that, the instrument is portable and relatively less expensive.

Key words Heptachlor; HS-SPME-GC-MS; Electronic nose; qualitative and quantitative