

分散液相微萃取测定苹果中灭线磷 马拉硫磷和毒死蜱残留

赵文婷¹, 杨中华², 魏朝俊¹, 赵建庄¹

(1.北京农学院农业部都市农业(北方)重点开放实验室, 北京 102206; 2.中国农业大学理学院, 北京 100193)

摘要:采用液液分散微萃取与气相色谱-火焰光度检测器联用技术,提出了可用于苹果中有机磷农药残留检测的一种快速、灵敏的新方法,并通过试验对提取条件进行了优化。结果表明,该方法成功地应用到苹果样本的检测。在优化的条件下最低检出限从 $1.32\sim 3.58\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$,相对标准偏差为 $11.06\%\sim 15.39\%$,分析标准曲线采用五点法(浓度从 $0.5\sim 20\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)来绘制,线性的变化从 $0.977\ 3\sim 0.997\ 6$ 。为了评价样本的基质效应,用有机磷农药从3个不同浓度水平对样本进行添加,回收率从 $64.0\%\sim 89.0\%$,并且没有发现基质效应。液液分散微萃取不仅操作简便而且有机溶剂使用量极少,是一种顺应时代要求的环境友好型萃取方法。

关键词:分散液相微萃取; 有机磷农药; 样品前处理

中图分类号:X830.2 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-2043(2010)09-1840-05

Dispersed Liquid Phase Microextraction Determination of Phosphorus, Sulfur Destroyed Line Malachy Phosphorus and Chlorpyrifos Residue

ZHAO Wen-ting¹, YANG Zhong-hua², WEI Zhao-jun¹, ZHAO Jian-zhuang¹

(1.Key Laboratory of Urban Agriculture(North), Ministry of Agriculture, Beijing University of Agriculture, Beijing 102206, China; 2.College of Science, China Agriculture University, Beijing 100193, China)

Abstract: A rapid and sensitive method based on dispersive liquid-liquid microextraction (DLLME) and gas chromatography-flame photometric detection (GC-FPD) has been successfully applied to the determination of organophosphorus pesticides residues (OPPs) in apples. The factors that influenced the extraction were optimized in the experiment. The optimum conditions: 5.0 mL apple sample was placed in 10.0 mL centrifuge tube, then the mixture of 1.5 mL acetone (disperser) and 30 μL 1,2-dichlorobenzene (extracter) was injected into the sample solution rapidly. Vibrate for 1 minute then centrifuge at the rate of $3\ 500\ \text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ for 5 minutes, the extract phase was sedimented at the bottom of the centrifuge tube, transfer 1 μL to GC system for analysis. Under the optimum condition, based on signal-to-noise ratio (S/N) of 3, limits of detection ranged from 1.32 to $3.58\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$. The relative standard deviations (RSD, $n=3$) were between 11.06% and 15.39% . Correlation coefficients varied from $0.977\ 3$ to $0.997\ 6$. The developed method was successfully applied in the analysis of apple samples. In order to evaluate the matrix effects of the samples, organophosphorus pesticide was added to the apples by using three different concentrations. The recoveries were ranged from 64.0% to 89.0% , and no matrix effect was observed. The results showed that the method was comparatively simple, fast and effective.

Keywords: disperse liquid-liquid microextraction (DLLME); organophosphorus pesticide; sample pretreatment

收稿日期: 2010-04-13

基金项目: 2010年度北京市属高等学校人才强教深化计划“学术创新人才 (PHR201006124)”; 北京果园常用农药残留检测技术研究与应用 (Z09060500600906); 北京市属高等学校人才强教深化计划资助项目“蔬菜优质安全生产理论与技术体系创新研究 (PHR200907136)”; 农产品加工及贮藏工程北京市重点建设学科 (PXM2009-014207-078172)

作者简介: 赵文婷 (1987—), 女, 硕士, 从事农药残留研究。E-mail: zhaowt0518@yahoo.cn

通讯作者: 赵建庄 E-mail: zhaojianzhuang@263.net

有机磷杀虫剂由于价格低廉、防虫效果良好,目前已经成为应用最广泛的一类农药,但是有些品种具有很高的急性毒性^[1],因此急需一种简单、方便、快速的农药残留分析方法检测环境和食品中的有机磷农药。

在农药残留分析中,样品前处理过程是一个重要的环节。传统的预处理技术主要有液相萃取(LLE)和固相萃取(SPE)^[2-3],但是都需要使用大量有毒有害的有机溶剂,步骤也十分繁琐。近几年液相微萃取(LPME)^[4-9]和固相微萃取(SPME)^[10-14]被广泛应用并逐步代替传统的样品前处理方法。2006年Rezaee等^[7]开发了一种全新的液相微萃取技术——液液分散微萃取(dispersive liquid-liquid microextraction, DLLME),该技术集采样、萃取和浓缩于一体,操作简单、快速、成本低、富集效率高、有机溶剂使用量少,是一种环境友好型萃取方法。自从该方法被提出以后,已经被应用到多种样本的检测。

本实验在前人研究基础之上,首次提出应用液液分散微萃取的方法并结合气相色谱火焰光度检测器来分析检测苹果中的有机磷农药残留,取得了满意的结果。

1 材料与方法

1.1 实验仪器

Agilent 6890N-SPD 带有 Agilent 化学工作站(Agilent Technologies, Palo Alto, USA)。分析天平:Sartorius BP211D 型十万分之一天平(德国), Sartorius BS1100S 型万分之一天平(德国)。电子天平:JY2002(上海精密科学仪器有限公司)。10 μL 和 50 μL 微量注射器(上海高鸽)。移液枪:Dragonmed Pipette(20~200 μL 、100~1 000 μL 、1 000~5 000 μL , 大龙医疗设备上海有限公司)。QL-901 涡旋仪:江苏海门其林贝尔仪器制造公司。RJ-TDL-40B 低速态势大容量高速离心机:无锡市瑞江分析仪器有限公司。DS200 型高速组织捣碎机:江苏省江阴市周庄科研器械。

1.2 试剂及标准品

标准品:3种有机磷农药(马拉硫磷、毒死蜱和灭线磷)标准品 2 000 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$,均来自于中国农业大学农药残留分析室,用丙酮稀释为 1 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ (丙酮为色谱纯)的混合标样。苹果样品来自超市,在经分析检验不含以上各种有机磷农药。

有机溶剂:丙酮色谱纯(Tedia, Fairfield, OH, USA),氯化钠分析纯,氯苯、二氯苯、四氯化碳均为分析

纯,购于北京化工试剂有限公司。

1.3 色谱条件

色谱柱:HP-5, 5% Phenyl Methyl Siloxane Capillary(30 m $\times$ 0.32 mm i.d. $\times$ 0.25 μm film thickness)。

进样口温度 250 $^{\circ}\text{C}$,不分流进样。炉温从 100 $^{\circ}\text{C}$ 开始,然后以 20 $^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ 升到 240 $^{\circ}\text{C}$,再以 15 $^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ 升到 270 $^{\circ}\text{C}$,保持 1 min,全程共 10 min。检测器温度为 250 $^{\circ}\text{C}$,检测器气体空气的流速为 100 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$,氢气的流速为 75 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ 。载气 N_2 ,流速 1.0 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$,补充气(N_2)流速 60 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ 。

1.4 样品前处理

取新鲜苹果去皮,称取 20 g 并在捣碎机中搅碎,然后称取 4 份各 3 g 捣碎的样品分别放入 4 只 50 mL 的 PTFE 离心管,加入 15 mL 丙酮,0.004 5 g 活性炭和 0.03 g 中性氧化铝用于去除苹果中的色素及其他杂质,在振荡器上剧烈振荡 3 min 后,在 3 500 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 下离心 5 min,取 1.5 mL 上清液作为分散剂,待下一步使用。

1.5 分散液相微萃取的方法

取 4 只干净的 10 mL 具塞玻璃离心试管分别放入 5 mL 纯净水,并快速加入 1.5 mL 丙酮分散剂(取自上述 PTFE 离心管中)和 30 μL 二氯苯(萃取剂)混合溶液。将具塞玻璃离心试管涡旋 1 min,再放入离心机以 3 500 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 5 min,此时萃取剂二氯苯已沉在试管底部,用进样针吸取 1 μL 直接进样。

2 结果与分析

2.1 萃取条件的优化

2.1.1 萃取溶剂种类的选择

萃取溶剂的种类是影响萃取效率的关键因素之一,选取要求如下:一是密度要大于水,以便离心后萃取溶剂沉淀在试管底部;二是在水中有较小的溶解能力;三是萃取溶剂对目标分析物要有较好的萃取能力;四是要适合气相色谱仪的进样要求,不能有太多的干扰杂质。本实验初选 3 种有机溶剂:氯苯、二氯苯和四氯化碳,从图 1 可以看出,其中二氯苯具有最好的萃取效果,氯苯和四氯化碳的萃取效果比较差,因此确定选择二氯苯作为 DLLME 的萃取溶剂。

2.1.2 萃取溶剂体积的选择

萃取溶剂的体积可以直接影响分散液相微萃取的富集倍数,本实验选取了 4 种萃取剂的体积:15、20、25、30 μL ,由进样后的回收率可以看出其中 30 μL 的萃取效果最好(图 2)。

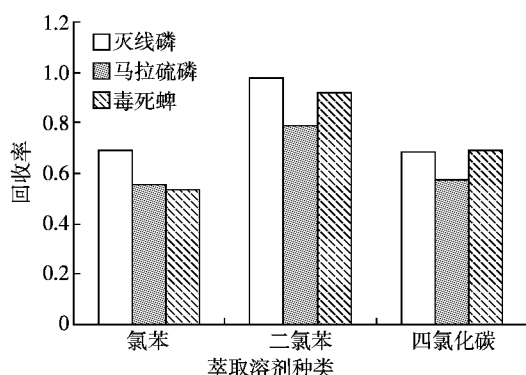


图1 萃取溶剂种类对回收率的影响

Figure 1 Recoveries of different type of extraction solvent

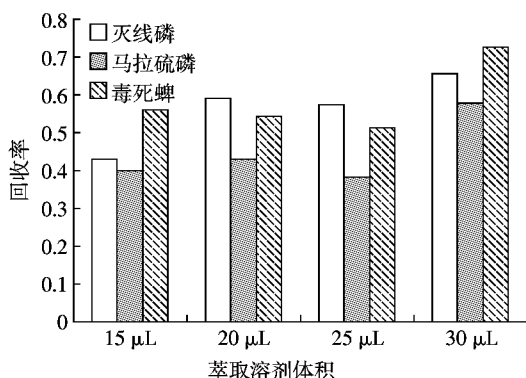


图2 萃取溶剂体积对回收率的影响

Figure 2 Recoveries of different volume of solvent extraction

2.1.3 萃取时间的选择

萃取时间是指水、分散剂和萃取剂从混合开始到离心之前这段时间。本实验选取1、3、5 min对实验结果进行了评价,从实验结果(图3)可以看出混合溶液都可以很快达到萃取平衡,这也是本方法的一大优点,因此选择1 min的萃取时间更为省时。

2.1.4 分散剂体积的选择

在本研究中的分散剂具有两方面的作用,首先是

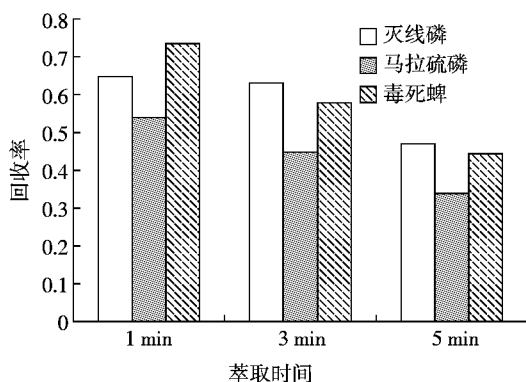


图3 萃取时间对回收率的影响

Figure 3 Recoveries of different extraction time

作为有效的分散剂用在DLLME中,其次是作为提取剂能够有效地将目标化合物从苹果样本中提取出来,因此在本部分的研究中,将考虑两方面的内容。本实验选择了丙酮,丙酮的体积会通过影响萃取剂在水中的分散程度来影响萃取效率,选择0.5、1、1.5 mL 3种体积进行实验,图4显示1.5 mL稍好于其他两者。

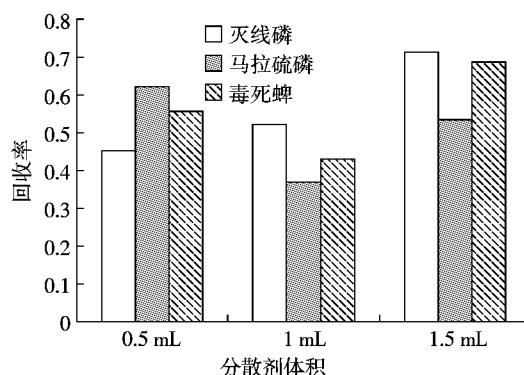


图4 分散剂体积对回收率的影响

Figure 4 Recoveries of different dispersant volume

2.1.5 盐效应

盐效应是微萃取过程中经常评价的一个参数,改变水样中盐的浓度会改变溶液的离子强度,对不同的分析物的萃取效果有不同的影响。在本实验中,采取向混合液中加入NaCl的方法来改变盐浓度,选取0%、1%、3%和5%几种浓度,结果发现(图5)混合液中盐浓度的增加会增加萃取剂的溶解度,使最终的沉淀相体积降低,从而影响方法的提取效率,所以确定实验不加盐。

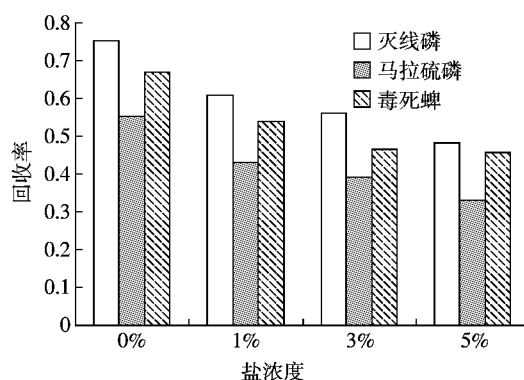


图5 盐浓度对回收率的影响

Figure 5 Recoveries of different salt concentration

2.2 方法的评价

根据2.1的参数优化筛选出最优提取条件:以二氯苯为萃取剂30 μL,丙酮为分散剂1.5 mL,涡旋振荡1 min,在3500 r·min⁻¹下离心5 min,盐浓度为

0%。优化后方法的相对标准偏差、线性范围、相关系数和最低检出限如表 1 所示。可以看出,该方法在线性范围内具有较好的重现性和较高的灵敏度。

表 1 3 种农药相对标准偏差、线性范围和最低检出限比较

Table 1 Compare relative standard deviation, the linear range and limits of detection in three pesticides

药品名称	RSD($n=9$)/%	线性范围	R^2	LOD
灭线磷	12.92	2~100	0.980 3	2.55
马拉硫磷	15.39	2~100	0.991 0	3.58
毒死蜱	11.06	2~100	0.989 9	1.32

2.3 方法的回收率和样品测定

苹果样品中添加这 3 种有机磷农药,用优化后的方法萃取样品中的残留农药。在实际样品中此方法的相对标准偏差、线性范围、相关系数和最低检出限如表 2,结果均令人满意。

表 2 添加样品后 3 种农药相对标准偏差、线性范围和最低检出限比较

Table 2 After add samples that compare relative standard deviation, the linear range and limits of detection in three pesticides

药品名称	RSD($n=9$)/%	线性范围	R^2	LOD
灭线磷	13.62	2~100	0.977 3	1.84
马拉硫磷	13.54	2~100	0.997 6	1.83
毒死蜱	4.59	2~100	0.984 8	1.68

3 讨论

首先把本实验采用的萃取方法与以前的一些常用的萃取方法(选取了分散固相萃取和液-液分配两种萃取方法)进行了比较,分散固相萃取^[3]的装置较贵,操作繁琐,不同批次生产的装置重现性差,且样品用量较大;液-液分配^[4]存在操作繁琐耗时,需要使用大量对人体和环境有毒或有害的有机溶剂;而分散液相微萃取正是去掉了这些缺点,不仅操作简便而且有机溶剂使用量极少,是一种顺应时代要求的环境友好型萃取方法。

通过表 3 比较可以看出分散液相微萃取方法的

表 3 与传统方法的比较

Table 3 Compare with traditional methods

方法	LOD	RSD($n=9$)/%	有机溶剂 体积	与之相比较 的文献序号
分散液相微萃取	1.32~3.58	4.59~13.62	1.5 mL 丙酮	本文
分散固相萃取	0.5~35	0.3~8.0	10 mL 乙腈	21
液-液分配萃取	10~50	3.05~19.10	50 mL 乙腈	22

优势明显,本实验运用分散液相微萃取方法结合气相色谱简单、快速的检测了苹果样品中 3 种有机磷杀虫剂。

4 结论

本实验采用液液分散微萃取与气相色谱火焰光度检测器联用技术建立了一种分析苹果中 3 种有机磷农药残留的新方法。本方法中丙酮可以同时作为提取溶剂和分散剂,火焰光度检测器对有机磷化合物具有高度选择性,使得经过 DLLME 操作后的有机溶剂可以直接进入色谱仪器分析杂质对分析的干扰很小,在优化的萃取条件下,取得了较好的萃取效果。利用 DLLME-GC-FPD 联用技术检测苹果中残留灭线磷、马拉硫磷和毒死蜱这 3 种有机磷农药,方法灵敏,各种分析参数符合食品中最高残留限量的要求,DLLME 可以作为新型的富集方法在农药残留分析中使用。

参考文献:

- [1] Jury W A, Winer A M, Spencer W F, et al. Transport and transformation of organic chemicals in the soil-air-water[J]. *Ecosystem Review Environment Contamination Toxicology*, 1987, 99: 119-163.
- [2] Hernandez F, Sancho J V, Pozo O, et al. Rapid direct determination of pesticides and metabolites in environmental water samples at sub- $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ level by on-line solid-phase extraction-liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry[J]. *Chromatogr A*, 2001, 939 (1-2): 1-11.
- [3] Ahmed F E. Chem Analyses of pesticides and their metabolites in foods and drinks[J]. *Trends Anal*, 2001, 20(11): 649-661.
- [4] Ahmadi F, Assadi Y, Milani Hosseini M R, et al. Determination of organophosphorus pesticides in water samples by single drop microextraction and gas chromatography-flame photometric detector[J]. *Chromatogr A*, 2006, 1101: 307-312.
- [5] Jeannot M A, Cantwell F F. Solvent microextraction into a single drop[J]. *Anal Chem*, 1996, 68: 2236-2240.
- [6] Psillakis E, Kalogerakis N. Hollow-fibre liquid-phase microextraction of phthalate esters from water[J]. *Chromatogr A*, 2003, 999: 145-153.
- [7] Rezaee M, Assadi Y, Millani M R, et al. Determination of organic compounds in water using dispersive liquid-liquid microextraction [J]. *Chromatogr A*, 2006, 1116: 1-9.
- [8] Wang Y, Kwok Y C, He Y, et al. Application of dynamic liquid-phase microextraction to the analysis of chlorobenzene in water by using a conventional microsyringe[J]. *Anal Chem*, 1998, 70: 4610-4614.
- [9] Rasmussen K E, Pedersen-Bjergaard S. Developments in hollow fibre-based, liquid-phase microextraction[J]. *Trends Anal Chem*, 2004, 23: 1-10.
- [10] Sarrión M N, Santos F J, Galceran M T. Gas chromatography/ion trap tandem mass spectrometry for the analysis of halobenzenes in soils by

- solid-phase microextraction[J]. *Rapid Commun Mass Spectrom*, 2000, 14:2271-2281.
- [11] Bouaid A, Ramos L, Gonzalez M J, et al. Solid-phase microextraction method for the determination of atrazine and four organophosphorus pesticides in soil samples by gas chromatography[J]. *Chromatogr A*, 2001, 939:13-21
- [12] Arthur C L, Pawliszyn J. Solid phase microextraction with thermal desorption using fused silica optical fibers[J]. *Anal Chem*, 1990, 62:2145-2148.
- [13] W Jun-Xia, Dong-Qing, G Zhi-Yuan, et al. Multiwalled carbon nanotubes coated fibers for solid-phase microextraction of polybrominated diphenyl ethers in water and milk samples before gas chromatography with electron-capture detection[J]. *Chromatogr A*, 2006, 1137:8-14.
- [14] Campillo N, Penalver R. Solid-phase microextraction combined with gas chromatography and atomic emission detection for the determination of cyclopentadienylmanganese tricarbonyl and(methylcyclopentadienyl)manganese tricarbonyl in soils and seawaters[J]. *Chromatogr A*, 2007, 1173:139-145.
- [15] Rezaee M, Assadi Y, Millani M R, et al. Determination of organic compounds in water using dispersive liquid-liquid microextraction [J]. *Chromatogr A*, 2006, 1116(1-2):1-9.
- [16] Berijani S, Assadi Y, Anbia M, et al. Dispersive liquid-liquid microextraction combined with gas chromatography-flame photometric detection: Very simple, rapid and sensitive method for the determination of organophosphorus pesticides in water[J]. *Chromatogr A*, 2006, 1123(1):1-9.
- [17] Rahnama Kozani R, Assadi Y, Shemirani F, et al. Part-per-trillion determination of chlorobenzenes in water using dispersive liquid-liquid microextraction combined gas chromatography-electron capture detection[J]. *Talanta*, 2007, 72(2):387-393.
- [18] Fattahi N, Assadi Y, Milani Hosseini M R, et al. Determination of chlorophenols in water samples using simultaneous dispersive liquid-liquid microextraction and derivatization followed by gas chromatography-electron-capture detection[J]. *Chromatogr A*, 2007, 1157(1-2):23-29.
- [19] Fari'na L, Boido E, Carrau F, et al. Determination of volatile phenols in red wines by dispersive liquid-liquid microextraction and gas chromatography-mass spectrometry detection[J]. *Chromatogr A*, 2007, 1157(1-2):46-50.
- [20] Rahnama Kozani R, Assadi Y, Shemirani F, et al. Determination of trihalomethanes in drinking water by dispersive liquid-liquid microextraction then gas chromatography with electron-capture detection[J]. *Chromatographia*, 2007, 66(1-2):81-86.
- [21] 刘敏,等.分散固相萃取-液相色谱-质谱检测蔬菜水果中氨基甲酸酯和有机磷农药[J].分析化学研究报告,2006,34(7):941-945.
- LIU Min, et al. Determination of carbamate and organophosphorus pesticides in fruits and vegetables by liquid chromatography-mass spectrometry with dispersive solid phase extraction.[J]. *Chemical Research Report*, 2006, 34(7):941-945.
- [22] 朱臻怡,冯民,等.气相色谱法同时测定花生中12种有机磷农药残留量[J].化学分析计量,2009,18(3):32-34.
- ZHU Zhen-yi, FENG Min, et al. Simultaneous detection of 12 organophosphorus pesticide residues in *Peanuts* by GC[J]. *Chemical Analysis of Measurement*, 2009, 18(3):32-34.