

小白菜中残留高效氯氰菊酯及氟氯氰菊酯的超临界流体萃取条件的研究

杨立荣, 陈安良, 冯俊涛, 郝双红, 张 兴

(西北农林科技大学无公害农药研究服务中心, 陕西 杨凌 712100)

摘 要:应用超临界流体萃取(Supercritical Fluid Extraction, SFE)技术,建立了高效氯氰菊酯和氟氯氰菊酯的萃取分离及 GC 检测方法。高效氯氰菊酯和氟氯氰菊酯的 SFE 优化条件分别为:压力 4000 psi、温度 65 ℃、CO₂ 体积 10 mL,萃取率 99.96%;压力 6 000 psi、温度 45 ℃、CO₂ 体积 30 mL,萃取率 101.95%。

关键词:超临界流体; 残留; 高效氯氰菊酯; 氟氯氰菊酯

中图分类号: O652.62 **文献标识码:** A **文章编号:** 1672-2043(2005)03-0616-04

Extracting Conditions of Cypermethrin and Cyfluthrin in Cabbage by Supercritical Fluid Extraction (SFE)

YANG Li-rong, CHEN An-Liang, FENG Jun-tao, HAO Shuang-hong, ZHANG Xing
(Biorational Pesticide Research and Service Center, Northwest Sci-Tech University of Agriculture and Forestry, Yangling 712100, China)

Abstract: An extracting method of Cypermethrin and Cyfluthrin in cabbage using supercritical fluid extraction (SFE) was established in this study. It has been found that it was necessary to treat the sample at certain granularity and content of water before they were extracted using SFE. Therefore, the samples must be smashed in existence of liquid nitrogen and appropriate amount of hydromatrix was added. To investigate optimized extracting conditions of SFE, the orthogonal design of 3 factors and 5 levels was designed. The pressure and the volume of CO₂ were found to be the most significant factors in affecting recoveries of both pesticides and the dose of modifier affected the recoveries at a great extent. We analyzed the whole 25 treatments synthetically, consequently, the selected extracting parameters of cypermethrin were: pressure 4 000 psi, temperature at 65 ℃, static time with 20 min, dynamic extraction volume of CO₂ 10 mL, 0.04 mL·g⁻¹ of methanol as static modifier, and methanol as collecting solvent. The extracted samples could be determined without further treatment. The GC conditions were: column temperature: 80 ℃, detector and injection temperatures: 260 ℃, keeping the temperature at 80 ℃ for 5 min, raising rate of temperature at 10 ℃·min⁻¹, equilibrium temperature 260 ℃(12 min), injection volume: 1 μL, carry gas 7 psi, attenuation 8, compensating gas 47 mL·min⁻¹. We got the results: the recoveries of cypermethrin and cyfluthrin were 99.96% and 101.95%, retention time 26.62 min, 26.67 min, respectively.

Keywords: supercritical fluid extraction; residue; cypermethrin; cyfluthrin

超临界流体萃取 (Supercritical fluid extraction, SFE)是一项颇具潜力的分离纯化技术,SFE 是利用超临界流体作为萃取溶剂进行萃取的一种技术,实践中多以超临界 CO₂ 作为超临界流体(SC-CO₂)。1986 年, Capriel 等首次将 SFE 用于土壤和植物样品农药残留

萃取中,并获得理想的萃取效果^[1]。本文较为系统地研究了 SFE 技术对小白菜中残留高效氯氰菊酯及氟氯氰菊酯的萃取过程并获得了 SFE 优化萃取条件。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

超临界流体萃取系统: 超临界 CO₂ 精确萃取仪 (ISCO SFXTM2-10 Supercritical Fluid Extraction), 2 台 260D 柱塞泵 (260D Syringe Pump) 及泵控仪(Sy-

收稿日期:2004-08-24

基金项目:国家 948 引进项目资助(971059)

作者简介:杨立荣,男,博士生。E-mail:liorongyang@163.com

联系人:张 兴,男,教授,博导,电话:(029)87092403

ringe Pump Controller),ISCO 同轴加热限流管 (2 mL·min⁻¹ Coaxial Heater Capillary Restrictor for SFE 2-10) 及其控制仪 (Restrictor Controller)。

气相色谱检测系统:PERKIN ELMER AutoSystem XL Gas Chromatograph, PE NELSON 900 Series Interface, ⁶³Ni ECD 检测器,Satorius 万分之一电子天平及其他常规仪器。

有机溶剂:均为分析纯 (天津易发化学试剂公司), N₂、CO₂ 纯度不低于 99.99%(陕西省兴平化工厂),硅藻土 (Hydromatrix,Celite 上海化学试剂站),重蒸水 (自制), 高效氯氰菊酯 (97.0%)、氟氯氰菊酯 (98.0%)(扬州农药厂),敌敌畏 (99.9%)(中国农科院药检所)。

1.2 试验方法

1.2.1 添加样品的制备和萃取

依 Z 字型采样法采摘田间小白菜,将小白菜在液氮环境下粉碎,与硅藻土按 2:1 质量比,充分混匀,四分法缩分;从 4.0 kg 蔬菜样本体中 (约含高效氯氰菊酯 4.500 0 mg,氟氯氰菊酯 15.000 0 mg)精确称取粉碎样品 4.000 0 g (其中约含高效氯氰菊酯 4.50×10⁻³ mg, 氟氯氰菊酯 1.5×10⁻² mg),置于 10 mL 样品仓中,待仪器达到预设条件后,将样品仓放入萃取池萃取,萃取物在甲醇中解压收集,定容至 10 mL。经上述方法处理后进行高效氯氰菊酯和氟氯氰菊酯的萃取与检测^[2]。

1.2.2 色谱条件

内标法定量,敌敌畏为内标物。检测器 ECD,柱温 80 ℃, 检测器及进样口温度 260 ℃ (升温速率 80 ℃恒温 5 min , 以 10 ℃·min⁻¹ 程序升温,260 ℃恒温 12 min),进样量 1μL,载气 7 psi,衰减 8,补偿气 47 mL·min⁻¹,保留时间 26.02 min,26.67 min。

2 结果与讨论

2.1 超临界萃取条件

在两种药剂萃取条件的研究中,对影响萃取效果的主要因素:萃取压力、萃取温度、动态萃取 CO₂ 体积,设计了三因素五水平正交试验 L₂₅(5⁶)^[3],见表 1。

据正交表的 L₂₅ (5⁶)25 种方案优选 SFE 萃取条件,试验结果见表 2。数据表明:依 A2、B4、C1 条件萃取时,SFE 对高效氯氰菊酯的萃取率分别为 99.96%;依 A4、B2、C3 条件萃取时, 氟氯氰菊酯的萃取率为 101.95%;两种药剂的萃取率在 25 组试验中效果均较为理想。

表 1 三因素五水平正交试验设计

Table 1 Orthogonal design with 3 factors and 5 Levels

FL	A/psi	B/℃	C/mL
1	3 000	35	10
2	4 000	45	20
3	5 000	55	30
4	6 000	65	40
5	7 000	75	50

注:(1)FL 为因素和水平, A 为压力,B 为温度,C 为 CO₂ 体积;
(2)1 psi=1pound·inch⁻², 1 000 psi=6.895MPa=70.38 kg·cm⁻²。

表 2 动态萃取条件对萃取效果影响的正交试验结果

Table 2 Orthogonal experiment results of extraction influences of dynamic conditions

编号	1A	2B	3C	高效氯氰菊酯萃取率 /%	氟氯氰菊酯萃取率 /%
1	1	1	1	25.21	33.61
2	1	2	2	2.13	120.19
3	1	3	3	81.07	98.43
4	1	4	4	24.76	4.95
5	1	5	5	13.76	1.87
6	2	1	3	98.31	ND
7	2	2	4	80.21	17.16
8	2	3	5	12.72	ND
9	2	4	1	99.96	1.52
10	2	5	2	17.84	26.62
11	3	1	5	24.71	0.01
12	3	2	1	11.73	ND
13	3	3	2	96.85	50.37
14	3	4	3	8.16	ND
15	3	5	4	1.53	7.93
16	4	1	2	5.81	28.09
17	4	2	3	75.57	101.95
18	4	3	4	3.74	0.12
19	4	4	5	32.68	5.95
20	4	5	1	2.24	5.87
21	5	1	4	18.10	0.003
22	5	2	5	2.73	ND
23	5	3	1	78.40	6.80
24	5	4	2	6.22	35.86
25	5	5	3	1.63	11.12

注:ND 为未检出。

2.1.1 压力对萃取率的影响

恒温升压,则 SC-CO₂ 密度增加,其溶解能力增强,然而其扩散系数随之减小,渗透能力削弱,制约了 SC-CO₂ 与溶质的充分接触,导致萃取效率降低,可见 SFE 萃取必须在适宜的压力下进行。图 1 是萃取压力对两种药剂萃取率的影响关系图。该图表明,高效氯氰菊酯和氟氯氰菊酯适宜的萃取压力分别为 4 000 psi 和 7 000 psi。

2.1.2 温度对萃取率的影响

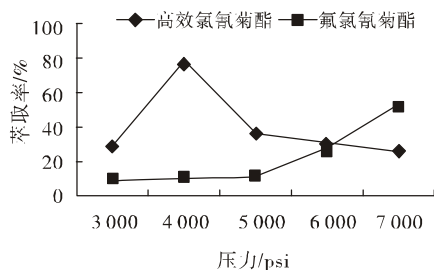


图1 压力对萃取率的影响

Figure 1 Effects of pressure on the recovery of the fortified samples with tebufenozide

恒压升温, SC-CO₂ 密度减小, 增强了扩散能力和渗透力, 可指数级地升高溶质的蒸汽压, 两种因素均有利于提高 SC-CO₂ 的萃取效率。但温度太高会增加仪器损耗、提高操作成本, 同时可能导致热敏化合物的降解。因此, 确定萃取温度时应充分考虑温度的影响规律以及化合物的理化性质。如图 2 所示, 本研究中两种药剂的适宜萃取温度分别为 65 °C 和 45 °C。

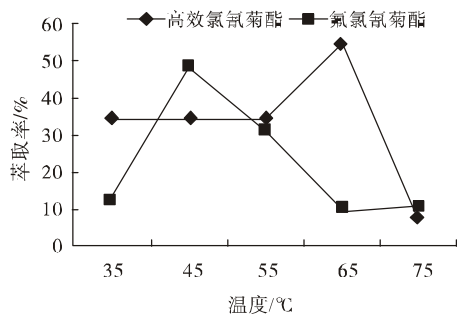


图2 温度对萃取率的影响

Figure 2 Effects of temperature on the recovery of the fortified samples with tebufenozide

2.1.3 CO₂ 体积对萃取率的影响

动态萃取时, SC-CO₂ 连续流经基质, 使其始终保持对溶质溶解度的非饱和性, 因此适宜量的 SC-CO₂ 有利于提高 SFE 对化合物的萃取率。整个 SFE 过程主要包括 SC-CO₂ 的渗透及扩散、溶质从基质中脱离、溶质转入 SC-CO₂。图 3 表明两种药剂最适宜的 SC-CO₂ 体积分别为 10 mL 和 30 mL。

2.1.4 改性剂对萃取率的影响

萃取过程中加入适量改性剂 (Modifier) 可增加溶质在超临界流体 (SCF) 中的溶解度, 提高 SCF 对溶质的选择性; 增强溶解度对温度和压力的敏感程度; 克服基质的束缚作用, 与溶质分子在基质上争夺活性位点等^[4-6]。但改性剂添加量过高则使萃取过程在一种非超临界状态下进行, 反而影响萃取效果。因此, 选择适宜的改性剂种类和添加量能够拓宽其萃取范围。本研

究中使用的改性剂为甲醇, 它对两种药剂萃取率的影响如图 4 和图 5 所示, 可见在两种药剂的萃取中改性剂添加量分别为 0.05 和 0.075 mL·g⁻¹。

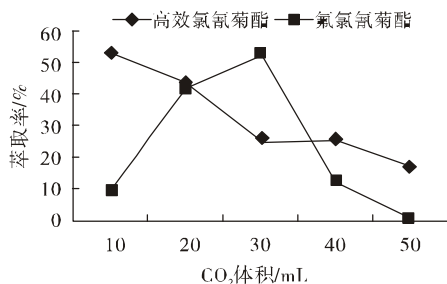


图3 二氧化碳体积对萃取率的影响

Figure 3 Effect of the doses of modifier on the recovery of the fortified samples with tebufenozide

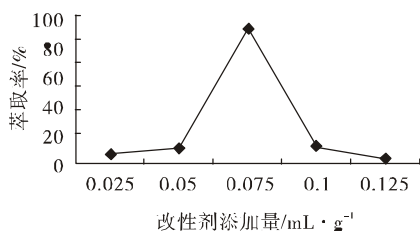


图4 改性剂添加量对氟氯氟菊酯萃取率的影响

Figure 4 Comparison of the recovery of the fortified samples with tebufenozide (with modifiers and no modifiers)

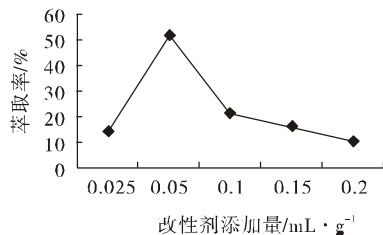


图5 改性剂添加量对高效氯氟菊酯萃取率的影响

Figure 5 Effects of the dose of modifier on the fortified samples with cypermethrin

2.2 三因素主次关系分析

对正交试验结果进行直观分析, 其结果见表 3。高效氯氟菊酯萃取中三因素的极值分别为压力 50.49、温度 47.16、CO₂ 体积 35.63; 氟氯氟菊酯中三因素极值分别为压力 42.75、温度 39.40、CO₂ 体积 50.66。三因素对高效氯氟菊酯萃取率影响的主次关系为: 压力 > 温度 > CO₂ 体积。对氟氯氟菊酯萃取率影响的主次关系为: CO₂ 体积 > 压力 > 温度。

3 结论

采用超临界流体萃取技术, 通过正交试验设计, 对小白菜中残留高效氯氟菊酯和氟氯氟菊酯的同时萃取条件进行了研究, 获得了较优的萃取条件, 使整

表 3 动态萃取条件对萃取率的影响正交试验结果分析表

Table 3 Visual analysis of orthogonal experiment of dynamic extraction condition influence of the recovery

因素	高效氯氰菊酯			氟氯氰菊酯		
	A/psi	B/℃	C/mL	A/psi	B/℃	C/mL
T ₁	146.93	172.14	264.74	45.30	61.71	47.80
T ₂	309.04	172.37	217.54	53.78	239.30	211.50
T ₃	142.98	171.78	128.85	58.31	155.72	261.13
T ₄	120.04	272.78	128.34	141.98	48.28	66.02
T ₅	107.08	37.00	86.60	259.05	53.41	7.83
$\bar{X}_1$	29.39	34.43	52.95	9.06	12.34	9.56
$\bar{X}_2$	77.26	34.50	43.51	10.76	47.86	42.30
$\bar{X}_3$	35.75	34.36	25.77	11.66	31.14	52.23
$\bar{X}_4$	30.01	54.56	25.67	28.40	9.66	13.20
$\bar{X}_5$	26.77	7.40	17.32	51.81	10.68	1.57
R	50.49	47.16	35.63	42.75	39.40	50.66

个萃取过程速度快、效率高、选择性强、有机溶剂用量少,萃取及 GC 检测可在 1 h 内完成。该法可作为小白菜中残留高效氯氰菊酯和氟氯氰菊酯萃取的有效方

法,并为将该技术应用于农药残留分析的深入研究提供了参考。

参考文献:

[1] Capriel P, Haisch A,Khan SV J. Supercriticalal Methanol: An efficacious technique for the extraction of bound pesticide residues from solid and plant samples [J]. *Agric Food Chem*, 1986, 34: 70–73.

[2] 杨立荣, 张 兴, 陈安良,等.小白菜中残留虫酰肼的超临界流体萃取条件的研究[J]. 色谱, 2004(3): 263–266.

[3] 袁志发,周静芊.试验设计与分析 [M]. 北京: 高等教育出版社,2000. 293.

[4] Lopez–Avila V, Dodhiwala N S, Bockert W F. Supercritical fluid extraction and its application to environmental analysis. [J]. *J Chromatogr Sci*,1990, 28: 468–476.

[5] 朱自强编著. 超临界流体技术–原理和应用 [M]. 北京: 化学工业出版社,2000.78.

[6] Sherma J. Pesticide Residue Analysis:1997–1998. [J]. *J of AOAC International*,1999,82(3):561–569.