

## 微波辅助萃取/气相色谱-质谱联用分析 蔬菜中的有机磷农药

杨 云, 张卓旻, 李攻科

(中山大学化学与化学工程学院, 广东 广州 510275)

**摘要** 建立了微波辅助萃取(MAE)/气相色谱-质谱联用法(GC-MS)测定蔬菜样品中二嗪磷、对硫磷、水胺硫磷的分析方法,研究了不同溶剂的萃取效率。选择二氯甲烷为萃取溶剂,采用二因素三水平的正交设计实验优化了萃取溶剂体积和萃取时间。方法的线性范围分别为二嗪磷和对硫磷 4 ng/g~400 ng/g、水胺硫磷 20 ng/g~400 ng/g,检出限分别为二嗪磷 0.29 ng/g、对硫磷 1.70 ng/g、水胺硫磷 2.30 ng/g。测定 200.0 ng/g 和 50.0 ng/g 加标蔬菜样品,回收率为 72.2%~102.0%,RSD 为 1.5%~11.0%。与传统的机械振荡萃取法相比,不仅萃取效率相当,而且还具有省时省溶剂的优点。

**关键词** 微波辅助萃取;气相色谱-质谱;有机磷农药

中图分类号 O658 文献标识码 A 文章编号 1000-871X(2002)05-0390-04

## Determination of Organophosphorus Pesticides in Vegetables by Microwave-Assisted Extraction/Gas Chromatography-Mass Spectrometry

YANG Yun, ZHANG Zhuo-min, LI Gong-ke

(Chemistry and Chemical Engineering School, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510275, China)

**Abstract**: A method of microwave-assisted extraction (MAE) followed by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) for the determination of organophosphorus pesticides (OPPs) in vegetables has been developed. The OPPs studied were diazinon, parathion and isocarbophos. Several extraction solvents were compared on the MAE efficiency. Dichloromethane gave good recovery, and was chosen for the procedure. A three-level orthogonal array design was used to optimize the MAE process. Factors affecting the MAE efficiency were considered, including the solvent amount and extraction time. The linear ranges of the method were from 4 ng/g to 400 ng/g for diazinon and parathion, and from 20 ng/g to 400 ng/g for isocarbophos. The detection limits were 0.29 ng/g, 1.70 ng/g and 2.30 ng/g for diazinon, parathion and isocarbophos respectively. Two sets of spiked vegetable samples of 200.0 ng/g and 50.0 ng/g were determined. The recoveries were from 72.2% to 102.0%, and the RSDs were from 1.5% to 11.0% ( $n=3$ ). The analytical results agreed quite well with those obtained by conventional extraction with mechanical shaking (EMS). The method is fast and solvent-saving.

**Key words**: microwave-assisted extraction; gas chromatography-mass spectrometry; organophosphorus pesticide

有机磷农药(OPPs)的大量使用使其在环境中广泛分布,严重危害着环境和人体健康<sup>[1]</sup>。对环境样品中 OPPs 的测定已日益引起重视,在中国环境优先监测有机污染物“黑名单”里列出的 10 种化学农药中,有机磷农药占了 7 种<sup>[2]</sup>。在粮食作物和经济作物中,特别是生长期短的蔬菜类食品中,OPPs 残留超标现象较突出<sup>[3]</sup>。

OPPs 残留分析一般采用色谱分离检测技术,其

样品预处理常采用机械振荡萃取(MSE)<sup>[4]</sup>和匀浆法<sup>[5]</sup>。这些方法操作繁琐,需使用大量的有毒有机溶剂。超临界流体萃取(SFE)具有选择性好、萃取效率高、环境污染小等优点,在蔬菜 OPPs 残留分析中也得到应用<sup>[6]</sup>,但因其成本高,适用范围窄,应用受到了限制。

微波辅助萃取(MAE)利用微波加热均匀、高效、选择性好的特点对目标物进行萃取分离。该技

收稿日期 2002-06-26

作者简介 杨云,女,1978 年生,硕士研究生。

通讯联系人 李攻科,女,博士,教授,电话(020)84110922, E-mail: zcesgkl@zsu.edu.cn。

基金项目 国家重点基础研究发展规划项目(G2000026302)和教育部留学回国人员科研启动基金项目。

术快速、高效、操作简便、污染小,与SFE相比,成本低,应用范围广,已被广泛用于有机污染物分析的样品预处理<sup>[7]</sup>。Pylypiw等<sup>[8]</sup>应用MAE萃取农作物中的多种农药残留,其中包括二嗪磷、毒死蜱、甲基毒死蜱3种有机磷农药,所得回收率结果与传统的机械振荡萃取法的结果相当。

二嗪磷、对硫磷、水胺硫磷是我国常用的有机磷农药,目前在国内外尚未见关于MAE萃取蔬菜样品中对硫磷、水胺硫磷的研究报道。本文选择这3种有机磷农药作为研究对象,采用正交实验设计优化了MAE的条件,建立了微波辅助萃取/气相色谱-质谱联用(MAE/GC-MS)测定蔬菜中有机磷农药的分析方法,并与传统的机械振荡萃取法进行了比较研究。

## 1 实验部分

### 1.1 仪器及试剂

MK-III型光纤自动控压微波消解系统(上海新科微波技术应用研究所);R201旋转蒸发仪(上海申科机械研究所);HY-4调速振荡器(富华电器有限公司);HP-6890气相色谱仪带质谱检测器(MSD-5973),配G1701B.02.05工作站(Hewlett-Packard, USA),SE-54熔融毛细管柱(30 m×0.2 mm i.d.×0.5 μm,固定相 $m$ (聚苯甲氧基硅氧烷): $m$ (聚二甲基硅氧烷)=5:95)。

二嗪磷、对硫磷和水胺硫磷标准溶液:分别取含各种有机磷农药100 mg/L的丙酮溶液(广州质量检验所化学仪器经营部),将各种有机磷农药标准溶液用丙酮稀释成2 mg/L的混合标准贮备液,贮存于冰箱中。甲醇、二氯甲烷、丙酮、正己烷:分析纯试剂(广州化学试剂厂),使用前经过全玻璃系统重蒸。无水 $\text{Na}_2\text{SO}_4$ :分析纯,650℃灼烧4 h,贮于密封瓶内备用。

### 1.2 仪器操作条件

色谱条件:采用程序升温,初始温度130℃,以10℃/min的速率升温至260℃保持1 min;载气为高纯氮气,流量1.0 mL/min,进样口温度250℃。

质谱条件:接口温度280℃,电子轰击(EI)离子源,电子能量70 eV,离子源温度230℃,四极杆温度150℃,质量扫描范围50 u~550 u。

### 1.3 加标样品制备

称取5 g剪碎的蔬菜样品(空白样品),加入一定量的有机磷农药标准品,制成各有机磷农药含量均为200.0 ng/g或50.0 ng/g的加标蔬菜样品。

### 1.4 样品处理

MAE:准确称取5 g蔬菜样品放入聚四氟乙烯

(PTFE)萃取内罐中,加入一定体积的萃取溶剂,盖上密闭活塞后,放入萃取外罐中,旋好外盖,在微波炉中加热一定时间。从微波炉中取出萃取罐,在空气中冷却至罐内恢复常压。萃取液过滤后,进行旋转蒸发,并用氮气吹扫至干。最后,加入0.5 mL的正己烷溶解残留物,取1 μL进行GC-MS测定。

机械振荡萃取:准确称取10 g剪碎的蔬菜样品,于研钵中用无水 $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 研磨至干粉状,然后移入250 mL具塞三角锥形瓶中,再用少许无水 $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 磨洗研钵后合并到锥形瓶中,加入70 mL二氯甲烷,在振荡器中振荡30 min,过滤后进行旋转蒸发浓缩,用氮气吹扫至干。最后,加入0.5 mL的正己烷溶解残留物,取1 μL进行GC-MS测定。

### 1.5 定性和定量

根据色谱保留时间定性,以选择性离子流采集数据,用峰面积定量,二嗪磷的质荷比( $m/z$ )为304,137,179,对硫磷为291,水胺硫磷为289。不分流进样,进样量1 μL。采用程序升温分离上述3种有机磷农药,分离色谱图见图1。

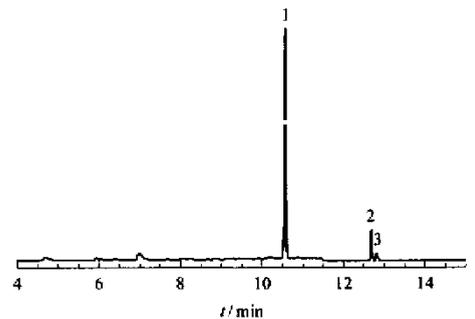


图1 有机磷农药的色谱图

Fig.1 Chromatogram of OPPs

1. diazinon; 2. parathion; 3. isocarbophos.

## 2 结果与讨论

### 2.1 MAE条件的优化

#### 2.1.1 萃取溶剂

在MAE中萃取溶剂的选择一般要考虑溶剂吸收和转化微波的能力、溶剂与基体的作用、溶剂对待测物的溶解度、溶剂对待测物萃取的选择性、以及对后续步骤的影响等因素。一般情况下,溶剂的介电常数越大即极性越大,对微波的吸收能力越强。甲醇、丙酮、二氯甲烷是传统方法中常用的溶剂,其介电常数大小顺序为甲醇>丙酮>二氯甲烷,对微波的吸收能力也是甲醇最强,二氯甲烷最弱。本实验选择了几种常用的萃取体系,包括:二氯甲烷、丙酮、V(丙酮):V(正己烷)=1:1和V(甲醇):V(二氯甲烷)=1:1,固定其他MAE条件(萃取时间4 min,

溶剂体积 25 mL),比较了它们对样品中 3 种 OPPs 的 MAE 回收率(见表 1)。

表 1 采用各种溶剂时 MAE 萃取蔬菜中 OPPs 的回收率( $n=3$ )

Table 1 Recoveries of OPPs in vegetable by MAE using various solvents( $n=3$ ) %

Solvent	Diazinon	Parathion	Isocarbophos
Dichloromethane	77.6	89.5	86.1
Acetone	74.8	73.9	82.1
V(acetone): V( <i>n</i> -hexane)=1:1	112.0	132.0	80.1
V(methanol): V(dichloromethane)=1:1	63.1	60.1	46.2

由表 1 的比较结果可知,萃取溶剂的选择与待测农药的性质紧密相关,不同的有机磷农药对应的最佳萃取溶剂不同。萃取二嗪磷时,丙酮-正己烷作溶剂能得到最好的萃取效率,而采用二氯甲烷作萃取溶剂时,对硫磷和水胺硫磷的 MAE 萃取效率最好。但是,采用丙酮-正己烷作萃取溶剂时,对硫磷的回收率偏高,超过了 120%。综合分析 3 种农药的回收率结果,二氯甲烷能得到折衷的萃取效率,并且二氯甲烷沸点低、极性小,方便后续的浓缩步骤,因此选择二氯甲烷作萃取溶剂。

### 2.1.2 影响 MAE 的因素

MK-III 型光纤自动控压微波消解系统可实现萃取时间和微波压力的控制。在该微波密闭系统中,较高的压力及较长加热时间会引起易吸收微波的有机溶剂的泄漏,而在第一档压力(0 MPa~0.5 MPa)下各有机溶剂基本无损失,因而本实验固定微波压力为第一档,且加热时间不超过 8 min。

在选定二氯甲烷作为萃取溶剂后,MAE 萃取效率主要受二氯甲烷体积和萃取时间的影响。为了优化 MAE 条件,本实验就二氯甲烷溶剂体积(20 mL, 25 mL, 30 mL)和萃取时间(2 min, 4 min, 6 min)进行二因素三水平的正交设计实验,得到的萃取回收率结果见表 2。

从表 2 中发现,微波萃取 2 min 时,随着溶剂体积的增加(从 20 mL 到 30 mL),3 种 OPPs 的萃取回收率增加,而萃取时间为 4 min 和 6 min 时,采用 25 mL 萃取溶剂能得到最好的萃取效率。这说明微波

表 2 MAE 萃取蔬菜中 OPPs 的正交实验设计(OCD<sub>3</sub>(3<sup>2</sup>))及回收率结果

Table 2 OPPs recoveries by MAE using a three-level orthogonal array design

Extraction time(min)	Solvent <sup>1)</sup> volume(mL)	Recoveries(%)		
		diazinon	parathion	isocarbophos
2	20	64.8	52.0	54.3
2	25	72.1	66.8	62.5
2	30	78.5	70.8	67.4
4	20	71.9	75.9	76.3
4	25	77.6	89.5	86.1
4	30	62.4	75.5	82.1
6	20	56.9	54.9	48.1
6	25	79.7	96.9	100.0
6	30	62.9	84.3	106.0

1) Solvent: dichloromethane.

萃取时间和萃取溶剂与 MAE 萃取效率是相关的。当微波萃取 2 min 时,萃取未充分,因此萃取回收率随溶剂体积的增加而增加,到微波萃取 4 min 时,萃取较充分,溶剂体积为 25 mL 时达到最佳萃取效率,再增加溶剂体积会发生溶剂泄漏的现象,微波萃取 6 min 时,萃取效率达到最大,表明萃取充分。本文选择萃取时间 6 min,溶剂体积 25 mL。

### 2.2 方法的线性范围和检出限

建立了 MAE/GC-MS 测定蔬菜样品中 3 种有机磷农药的分析方法,方法的线性范围分别为二嗪磷和对硫磷 4 ng/g~400 ng/g、水胺硫磷 20 ng/g~400 ng/g,检出限( $S/N=3$ )分别为二嗪磷 0.29 ng/g、对硫磷 1.70 ng/g、水胺硫磷 2.30 ng/g。

### 2.3 与传统方法的比较

在样品中按 200.0 ng/g 和 50.0 ng/g 水平添加标准品,通过测定加标样品中的 OPPs,比较了 MAE 与传统的机械振荡萃取方法的萃取效率(见表 3)。由表 3 可知,对于 200.0 ng/g 的加标样品,MAE 和 MSE 萃取二嗪磷和对硫磷的结果相当,而对于水胺硫磷,MAE 的萃取回收率比 MSE 的萃取回收率高。对于 50.0 ng/g 的加标样品,3 种 OPPs 的 MSE 的萃取回收率都比较低;而采用 MAE,二嗪磷得到与 MSE 相当的结果,对硫磷和水胺硫磷的回收率比采用 MSE 得到的萃取回收率要高。说明采用 MAE 萃取蔬菜样品中较高含量的 OPPs 时,萃取效率与

表 3 MAE 与 MSE 的分析结果比较( $n=3$ )

Table 3 Comparison between MAE and MSE for the extraction of OPPs( $n=3$ )

OPPs	Added (ng/g)	MAE			MSE		
		found (ng/g)	recovery (%)	RSD (%)	found (ng/g)	recovery (%)	RSD (%)
Diazinon	200.0	156.0	77.8	1.5	163	81.6	4.2
	50.0	36.1	72.2	7.1	35.5	71.0	5.1
Parathion	200.0	183.0	91.5	3.8	200.0	100.0	4.0
	50.0	42.7	85.4	6.6	34.4	68.8	5.1
Isocarbophos	200.0	205.0	102.0	4.9	162.0	80.9	2.0
	50.0	48.7	97.5	11.0	33.7	67.5	5.1

传统方法相当,而对于蔬菜样品中低含量的 OPPs, MAE 的萃取效率比传统方法好。对于水胺硫磷, MAE 的萃取效率都比 MSE 好,说明 MAE 更适用于蔬菜样品中水胺硫磷的萃取。

比较 MAE 和 MSE 的精密度发现,除了 MAE 萃取 50.0 ng/g 加标样品中水胺硫磷的 RSD 为 11.0% 以外,其他的 RSD 均小于 7.1%。MAE 方法的样品用量较小(5 g),因此萃取 OPPs 含量较低的样品时精密度会略差。与传统的 MSE(溶剂体积 70 mL、萃取时间 30 min)相比,MAE(溶剂体积 25 mL、萃取时间 6 min)具有省时省溶剂的优点,是萃取蔬菜样品中 OPPs 的有效方法。

### 3 结论

建立了 MAE/GC-MS 测定蔬菜样品中二嗪磷、对硫磷、水胺硫磷的分析方法,研究了不同溶剂的萃取效率。以二氯甲烷为萃取溶剂,采用二因素三水平的正交设计实验优化了 MAE 的条件。方法的线性范围分别为二嗪磷和对硫磷 4 ng/g~400 ng/g、水胺硫磷 20 ng/g~400 ng/g,检出限分别为二嗪磷 0.29 ng/g、对硫磷 1.70 ng/g、水胺硫磷 2.30 ng/g。测定 200.0 ng/g 和 50.0 ng/g 加标样品,回收率为 72.2%~102.0%,RSD 为 1.5%~11.0%。与传统的机械振荡萃取法相比,两者的萃取效率相当,但

MAE 具有省时省溶剂的优点。

### 参考文献:

- [1] FU Ke-wen. Chemical Pollution in Agricultural Environment. Beijing: Agricultural Press, 1985. 207  
傅可文. 农业环境的化学污染. 北京: 农业出版社, 1985. 207
- [2] JIANG Xi-liu. Advances in Environmental Science, 1993, 1(6):1  
江希流. 环境科学进展, 1993, 1(6):1
- [3] ZHONG Wei-ke, HAO Jian, SUN Mei-xin, CHEN Yan-ling. Pesticides, 2000, 39(7):1  
仲维科, 郝 骥, 孙梅心, 陈雁玲. 农药, 2000, 39(7):1
- [4] HUANG Cong. Journal of Analytical Science, 1999, 15(4):321  
黄 聪. 分析科学学报, 1999, 15(4):321
- [5] ZHUANG Wu-ji, ZHOU Yu. Chinese Journal of Chromatography, 1994, 13(3):202  
庄无忌, 周 昱. 色谱, 1994, 13(3):202
- [6] WANG Jian-hua, WANG Guo-tao, YUAN She-mei. Analytical Laboratory, 1999, 18(6):55  
王建华, 王国涛, 袁社梅. 分析实验室, 1999, 18(6):55
- [7] Eskilsson C S, Bjoklund E. J Chromatogr A, 2000, 902:227
- [8] Pylypiw H M, Arsenault T L, Thetford C M, Mattina M J I. J Agric Food Chem, 1997, 45:3522