

无溶剂微波辅助 - 液相微萃取测定土壤中的滴滴涕^{*}

谭莉华¹ 邹小兵^{*,1} 夏之宁¹ 杨 力²

(1. 重庆大学化学化工学院, 重庆 400044; 2. 重庆大学生物工程学院, 重庆 400044)

摘 要:建立了一种快速、有效、环境友好的样品前处理方法,即无溶剂微波辅助-液相微萃取技术,并结合高效液相色谱法对土壤中的滴滴涕残留进行了测定分析,同时对影响萃取效率的相关因素,如萃取溶剂的种类、微波辐射功率、萃取时间和 pH 等因素进行了优化。最终确定最佳优化条件为:萃取溶剂为正庚烷,微波辐射功率为 120 W,萃取时间为 1 min, pH 为 5。在最优条件下,滴滴涕的检出限(S/N=3)为 0.18 $\mu\text{g}/\text{kg}$,定量限(S/N=10)为 0.59 $\mu\text{g}/\text{kg}$,实际土壤加标回收率 87.34%~96.41%之间,相对标准偏差 RSDs 在 5.75%~6.72%之间。理论分析和实验结果表明,该方法具有操作简便,节省溶剂,快速,高效,选择性好等特点。

关键词:无溶剂微波萃取;液相微萃取;高效液相色谱;滴滴涕

中图分类号:O652.6 文献标识码:B doi:10.3969/j.issn.1006-6055.2013.05.001

Determination of DDT in Soil by Solvent-free Microwave Extraction Combined with Liquid-phase Microextraction^{*}

TAN Lihua¹ ZOU Xiaobing^{*,1} XIA Zhining¹ YANG Li²

(1. College of Chemistry and Chemical Engineering, Chongqing University, Chongqing 400044;

2. College of Bioengineering, Chongqing University, Chongqing 400044)

Abstract: A novel method was developed for the determination of Dichlorodiphenyltrichloro-ethane (DDT) in soil sample by using solvent-free microwave extraction combined with liquid-phase microextraction (SFME-LPME) and high performance liquid chromatography (HPLC). Various extraction parameters that affected the extracting efficiency, such as the type of extraction solvent, extraction time, microwave heating power and pH were investigated. Under the optimized conditions, the limit of detection (LOD, S/N=3) and the limits of quantification (LOQ, S/N=10) was 0.18 $\mu\text{g}/\text{kg}$ and 0.59 $\mu\text{g}/\text{kg}$, respectively. The recoveries of target analyte spiked in real soil sample were 87.34%~96.41%. The relative standard deviations (RSDs) were 5.75%~6.72%. The results indicated that the developed method is convenient, solvent-saving, rapid, efficient and highly selective.

Key words: solvent-free microwave extraction; liquid-phase microextraction; high performance liquid chromatography; Dichlorodiphenyltrichloroethane

1 引言

滴滴涕 (Dichlorodiphenyltrichloroethane, DDT) 作为一种高毒性、亲脂性和半挥发性的有机氯杀虫剂,曾在我国大量生产、使用。由于其具有不易降解、持久性和生物蓄积性等特点^[1],很容易吸附在土壤有机质中,并通过植物的吸收进入到食物链,最终对生态环境和人体健康存在潜在的威胁^[2,4]。至今,滴滴涕等有机氯残留在水体、土壤和动植物等环境介质中均有被检出。Tao 等^[5]用固相微萃取结合气相色谱-电子捕获检测器分析测定了九条不同河流的水、悬浮物和沉积物中的滴滴涕残留及其代谢物的含量。测得水中、悬浮物及沉积物中的平均滴滴涕残留量分别为 $59 \pm 30 \text{ ng/L}$ 、 $2690 \pm 1940 \text{ ng/g}$ 和 $340 \pm 930 \text{ ng/g}$ 。Cui 等^[6]报道了超声溶剂萃取方法萃取土壤中的六六六和滴滴涕残留,并用气相色谱-质谱法进行了测定分析。结果表明,都江堰和北川采集的土壤样品中均含有六六六和滴滴涕,且其含量均高于四川卧龙自然保护区的标准量。高乃媛等^[7]采用气相色谱-质谱联用仪对天津临港工业区周围海域生物体内的滴滴涕和六六六残留进行了测试,测得该海域生物体中 DDTs 的含量相对较高,生物体内 DDTs 和 HCHs 含量均未超过海洋生物质量国家标准,但生物样品中 DDTs 组份都已超过 USE-

PA 制定的野生动物质量基准。由此可见,建立一种检测滴滴涕残留的方法是很有必要的。

传统的样品前处理方法,如索氏提取、液液萃取、柱层析等,存在着步骤繁琐、费时,提取与净化效率低,成本高,易引入误差,不易与其它分析仪器联用,需使用大量有机溶剂等缺点^[8]。液相微萃取 (liquid phase micro-extraction, LPME) 是 20 世纪 90 年代兴起的一种样品前处理新技术。该技术的基本原理建立在样品与微升级甚至纳升级的萃取溶剂之间的分配平衡基础上,即采用微滴溶剂置于被搅拌或流动的溶液中,从而实现溶质的微萃取。该方法具有操作简单方便、分析时间短、溶剂用量少、萃取效率高,快速廉价,还可实现与其他仪器联用等特点^[9]。LPME 发展至今,已有多篇文章提到 LPME 的应用,内容涉及到环境、食品、天然产物、药物、生物样品和毒物等多方面^[10-13]。

微波辅助无溶剂萃取 (solvent free microwave extraction, SFME) 是近年来在微波萃取的基础上,刚刚发展起来的一种全新萃取方式。在不加入任何溶剂的情况下,利用样品自身水分吸收微波能量,加热反应体系,将挥发性组分蒸馏出来。由于在提取过程中未引入任何溶剂, SFME 可被看作是一种无污染的绿色提取法。目前, SPME 主要用于植物挥发油的提取^[14-16]。在现有的研究文献中,很少有文献将此方法运用在农药残留的痕量检测分析。

本文在无溶剂微波辅助萃取和液相微萃取的基础上,自制了一套新的组合萃取装置 (如图 1 所示),建立了一种无溶

^{*} 国家自然科学基金 (1010200520120021) 资助

^{**} E-mail: zxygl@yahoo.com.cn

剂微波辅助-液相微萃取在线联用技术,结合高效液相色谱法测定土壤中滴滴涕的残留量的方法,并考察了影响无溶剂微波辅助-液相微萃取的因素,为检测土壤中滴滴涕农药提供了一种操作简便、快速、高效的分析方法。

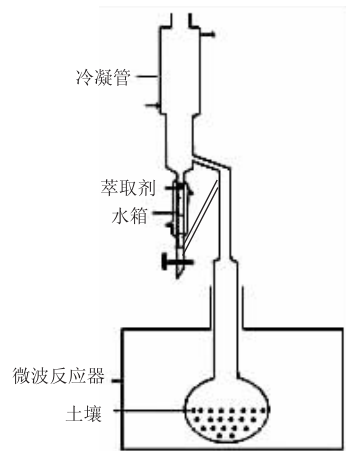


图1 无溶剂微波辅助-液相微萃取装置图
Figure 1 Assembly of the SFME-LPME apparatus

2 实验部分

2.1 仪器与试剂

多模功率可调微波化学反应器 LWMC-204(南京陵江科技开发有限责任公司);高效液相色谱仪(LC-900B,配有UV900 检测器,四川仪表九厂);HW-2000 色谱工作站(上海千谱软件有限公司);自组装萃取装置(一套);80 目筛(浙江少虞市道墟张兴纱筛厂)。

浓度为 100 $\mu\text{g/mL}$ 的 o. p'-DDT 溶液标准样品(农业部环境保护科研监测所);甲醇、二甲苯、甲苯、乙酸丁酯、正辛醇、正庚烷(分析纯,重庆川东化工有限公司),实验用水为蒸馏水。

2.2 溶液的配制及材料的准备

取 1 mL 浓度为 100 $\mu\text{g/mL}$ 的 o. p'-DDT 溶液标准溶液置于 100 mL 容量瓶中,用甲醇稀释,配制成 1 000 $\mu\text{g/L}$ 的标准储备溶液,置于 $-7\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的冰箱中保存备用。

土壤样品处理:土壤采集(为减少实验误差,土壤是一次性批量采足备用)→粉碎研磨→筛分混匀(去除大颗粒杂质)→装袋备用。每次实验前,先取足够量土壤,用蒸馏水浸泡 24 h,使得土壤含水率达到饱和。

2.3 色谱条件的确定

实验所用液相色谱为 Kromasil LC-18 色谱分离柱(250 mm $\times$ 4.6 mm i. d., 5 μm);通过文献查阅和反复实验尝试,最终确定液相色谱条件为:流动相为甲醇-水溶液(80:20);流速为 0.6 mL/min;检测波长为 254 nm;进样量 20 μL ;柱温为室温。流动相均经过 0.45 μm 微孔滤膜过滤并超声脱气。

2.4 实验方法

首先,取足够的处理过的土壤样品,用蒸馏水完全浸泡 24 h,使其达到饱和状态;再准确称取 100 g 浸泡后的土壤于 250 mL 萃取烧瓶中,放入微波反应器内。然后在改装的挥发油测定器水相中移入 5 mL 蒸馏水,再移取 100 μL 萃取溶

剂加入其中,按照图 1 组装装置,并在装置上方接入回流冷凝管,对加热挥发

来的滴滴涕进行冷却,可避免挥发组分的损失。SFME-LPME 整个萃取过程可归纳为:分离(微波热效应)→微萃取(气液分配)→浓缩(微滴萃取)三个步骤。待反应结束后,取出改装的挥发油测定器,收集微萃取过程中的有机相,最后将有机相直接进行液相色谱分析。

3 结果与讨论

3.1 样品前处理条件的选择

3.1.1 萃取剂的选择

在液相微萃取中,萃取剂的选择对萃取结果的影响至关重要。萃取剂的选择首先应遵循“相似相溶”原则,即不溶于水,但分析物在其中的溶解性较好;其次,根据自组装装置的需求,所选取的萃取剂密度必须小于水;同时,萃取剂的选择要求其分析样品的干扰较少。本实验考察了二甲苯、甲苯、乙酸丁酯、正辛醇、正庚烷等对滴滴涕的萃取能力,如图 2 所示。实验结果表明,正庚烷作为萃取剂时萃取效率最高,根据实验所需选定萃取剂的用量为 100 μL 。

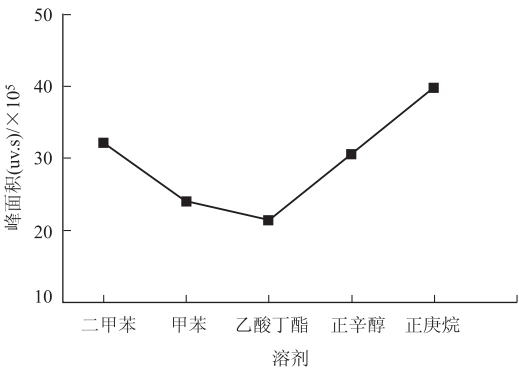


图2 萃取剂对萃取效率的影响
Figure 2 Effect of extraction solvent on extraction efficiency

3.1.2 微波辐射功率的选择

在其他实验条件相同的情况下,考察了不同功率(40 W、80 W、120 W、160 W、200 W)对萃取效果的影响,见图 3。在无溶剂微波辅助萃取过程中,微波辐射功率增大,温度会随之升高,分析物从土壤基质中扩散到气相的速度也会加快,从而缩短萃取到达平衡的时间。但是如果温度过高,可能会导致目标分析物挥发速度过快、与萃取液作用时温度过高,导致萃取溶剂挥发损失,萃取物的量减少;而过低功率不利于样品的挥发,同样降低萃取效果。经实验验证,微波功率为 120 W 时,萃取效果最佳。因此,本实验选择 120 W 作为最优微波辐射功率。

3.1.3 萃取时间的选择

为了减少实验误差,本实验萃取时间定义为萃取过程中第一滴挥发性液体进入装置左上角的萃取溶剂中开始计时。在微波辅助萃取过程中,萃取时间的影响是非常显著的。萃取时间过长,可能使待测分析物在较长时间的微波辐射下发生分解或导致基质中更多的挥发成分进入到萃取溶剂中,对实验结果产生干扰;同样,萃取时间过短,有可能会使得目标

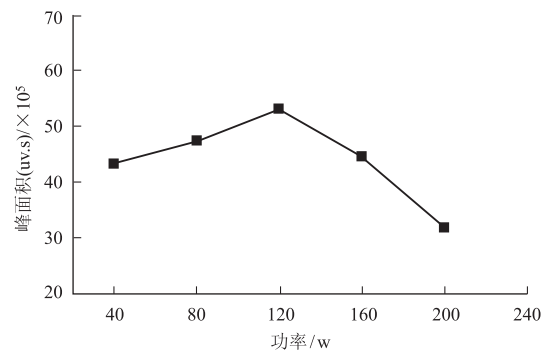


图3 微波辐射功率对萃取效率的影响

Figure 3 Effect of microwave irradiation power on extraction efficiency

分析物的提取不彻底。在其他实验条件保持相同的情况下,分别考察了不同萃取时间(20 s、60 s、120 s、180 s、240 s)对滴滴涕萃取效率的影响,见图4。从实验数据可看出,当第一滴挥发性液滴进入到萃取溶剂中1 min时,萃取效果最好。所以,最佳萃取时间为1 min,整个实验过程所需时间为6~8 min。

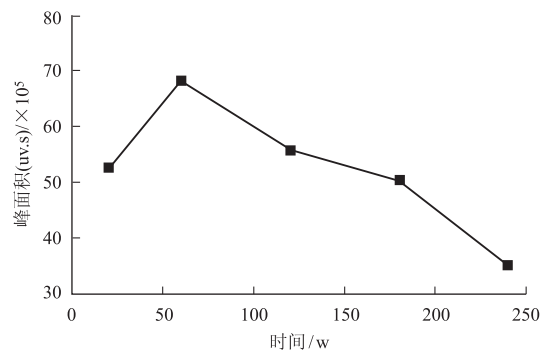


图4 萃取时间对萃取效率的影响

Figure 4 Effect of extraction time on extraction efficiency

3.1.4 pH 的选择

样品溶液的 pH 直接影响着萃取化合物的萃取效率。本实验考察了 pH 为 2.0、5.0、7.0、9.0 和 12.0 时的萃取情况,见图5。当 pH < 7 时,样品化合物的萃取效果较稳定;当 pH > 7 时,萃取出来的滴滴涕逐渐减少,这可能与滴滴涕化合物在酸碱溶液中的溶解度不同引起的。滴滴涕的化学式为 (ClC₆H₄)₂CH (CCl₃),结构中含有 -CCl₃ 基团;滴滴涕是由氯苯和三氯乙醛在酸性条件下高温缩合而成的,在 pH > 7 的条件下,极易发生降解^[17],从而导致了滴滴涕萃取效率的降低。实验结果表明,pH 为 5.0 时的萃取效率较高,综合以上考虑,本实验选择 pH 为 5。

3.2 标准曲线、检出限和定量限

用标准储备溶液配制成一系列不同浓度梯度标准待测溶液,以峰面积(y)对不同浓度(x, μg/L)作图,建立标准工作曲线,曲线方程为 $y = 5\,603.6x - 11\,001$,线性范围为 10 ~ 500 μg/L,相关系数 R^2 为 0.999,线性关系良好。在最优条件下,以实际土壤为样品,进行加标实验,考察了该方法的检出限(LOD)和定量限(LOQ),它们分别以信噪比为 3 (S/N = 3)和信噪比为 10 (S/N = 10)来计算的,具体数据见表1。

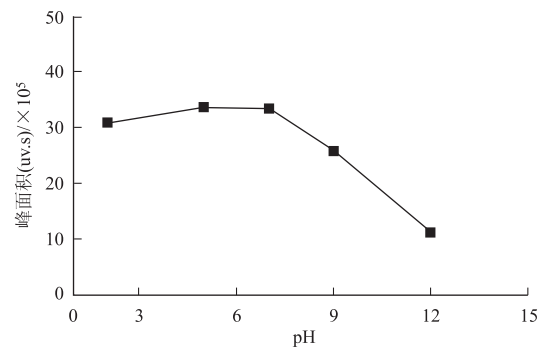


图5 pH 对萃取效率的影响

Figure 5 Effect of pH on extraction efficiency

表1 标准曲线、检出限(S/N = 3)及定量限(S/N = 10)

Table 1 Linearity, limit of quantitation(S/N = 3) and Limit of quantification(S/N = 10)

化合物	标准曲线	线性范围 (μg/L)	相关系数 R ²	检出限 LOD (μg/kg)	定量限 LOQ (μg/kg)
DDT	$y = 5\,603.6x - 11\,001$	10 ~ 500	0.999	0.18	0.59

3.3 实际土壤样品中滴滴涕的测定

在最佳实验条件下对重庆大学附近的土壤进行了测定,结果未测出滴滴涕,图6是滴滴涕溶液在实际土壤样品的加标液相色谱图,从图中可以看出,通过微波反应器的加热,从土壤基质中的提取出来的痕量挥发性物质对目标分析物的干扰很少。对实际土壤进行了3个不同浓度(8 μg/kg、12 μg/kg、16 μg/kg)的测定,计算加标回收率和相对标准偏差,结果见表2。

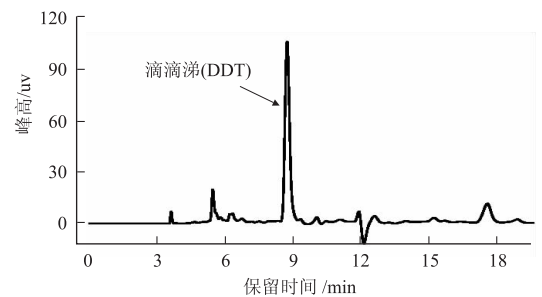


图6 实际土壤加标高效液相色谱图

Figure 6 Chromatogram of DDT spiked real soil sample

Zhao 等^[1]将离子液体作为萃取剂,采用分散液相微萃取对水样中的 DDT 进行了检测,其结果表明,实际样品加标回收率在 94.4 ~ 115.3%,相对标准偏差为 5.27 ~ 6.73%;刘文长等^[18]用超声提取-固相萃取小柱净化-气相色谱法测定土壤中 14 种有机氯农药,相对标准偏差为 1.17% ~ 14.66%,基体加标平均回收率为 82.78% ~ 106.94%;Zhao 等^[19]采用分散液相微萃取结合 GC-μECD 检测方法分析测定了水样中包括 DDT 在内的有机氯农药残留,测得结果为加标回收率在 60.35% ~ 107.89% 之间,相对标准偏差都在 9% 以下。由表 2 可知,无溶剂微波辅助-液相微萃取方法测定滴滴涕实际样本加标回收率为 87.34% ~ 96.41%,相对标准偏差为 5.75 ~ 6.72%。此外,无溶剂微波辅助-液相微萃取方法应用到土壤中的滴滴涕残留的检测与现有的文

献^[18-21]和国家标准 GB/T 14550-2003 相比,在样品净化、进样方式方面进行了改进。样品净化方面,无溶剂微波辅助-液相微萃取的在线联用的前处理方法,与传统索氏萃取法,液液萃取,固相萃取法等,弥补了成本大、耗溶剂、速度慢等缺点。通过微波辐射的加热,挥发性或半挥发性成分沿着内管壁进入液相微萃取的环节,避免了土壤中非挥发性杂质的干扰,极大的提高了目标分析物的选择性,同时操作更加简便。进样方式方面,萃取出的目标分析物无需进一步净化,可直接进行液相色谱分析。因此本方法对于挥发性或半挥发性的痕量农药残留筛选和检测具有较强的针对性和适用性。

表 2 滴滴涕的实际样品加标回收率

Table 2 Recoveries of DDT spiked real samples

加标量 ($\mu\text{g/kg}$)	检出量 ($\mu\text{g/kg}$)	平均加标回收率 (%)	相对标准偏差 (RSD%)
8	6.810, 7.537, 6.617	87.34	6.72
12	10.161, 10.629, 10.745	87.60	5.75
16	15.334, 15.562, 15.383	96.41	6.39

4 结论

本文在 SFME 和 LPME 的基础上建立了无溶剂微波辅助-液相微萃取在线联用法,并利用该方法对土壤中的残留农药滴滴涕进行了分析,整个过程总耗时 6 min 左右。萃取后的有机液滴可直接进行液相色谱、气相色谱等的分析。本方法节省溶剂、选择性好、方便与分析仪器的联用,受样品中基质的影响小,尤其适用于含有复杂基质的挥发性样品的分析,为环境中有机污染物及其它样品的前处理提供了一种简便、快捷、环境友好的方法。

参考文献

[1] ZHAO R S, ZHANG L L, WANG X. Dispersive liquid-phase microextraction using ionic liquid as extractant for the enrichment and determination of DDT and its metabolites in environmental water samples [J]. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2011, 399 (3) : 1 287-1 293.

[2] HAN S Y, QIAO J Q, ZHANG Y Y, et al. Determination of n-octanol/water partition coefficient for DDT-related compounds by RP-HPLC with a novel dual-point retention time correction [J]. *Chemosphere*, 2011, 83 (2) : 131-136.

[3] BIDDLEMAN T F, LEONEL A D. Soil air exchange of organochlorine pesticides in the Southern United States [J]. *Environmental Pollution*, 2004, 128 : 49-57.

[4] 杨国义, 万开, 张天彬, 等. 广东省典型区域农业土壤中六六六 (HCHs) 和滴滴涕 (DDTs) 的残留及其分布特征 [J]. *环境科学研究*, 2008, 21 (1) : 113-117.

[5] TAO S, LI B G, HE X C, et al. Spatial and temporal variations and possible sources of dichloro diphenyl trichloroethane (DDT) and its metabolites in rivers in Tianjin [J]. *Chemosphere*, 2007, 68 : 10-16.

[6] CUI Weiwei, ZHANG Qiangbin, ZHU Xianlei, et al. Determination of HCH and DDT in soils following Wenchuan 5.12 Violent Earthquake in China [J]. *Chinese Journal of Geochemistry*, 2011, 30 : 125-131.

[7] 高乃媛, 刘宪斌, 田胜艳, 等. 天津临港工业区周围海域生物体内滴滴涕 (DDTs) 和六六六 (HCHs) 残留 [J]. *海洋湖沼通报*, 2011,

42 (3) : 76-82.

[8] LI B X, HE Y Z, XU C H. Simultaneous determination of three organophosphorus pesticides residues in vegetables using continuous-flow chemiluminescence with artificial neural network calibration [J]. *Talanta*, 2007, 72 : 223-230.

[9] HAN D D, ROW K H. Trends in liquid-phase microextraction, and its application to environmental and biological samples [J]. *Microchim Acta*, 2012, 176 : 1-22.

[10] LEE J Y, LEE H K, RASMUSSEN K E, et al. Environmental and bioanalytical applications of hollow fiber membrane liquid-phase microextraction: A review [J]. *Analytica Chimica Acta*, 2008, 624 : 253-268.

[11] 赵汝松, 徐晓白, 刘秀芬. 液相微萃取技术的研究进展 [J]. *分析化学*, 2004, 32 (9) : 1 246-1 251.

[12] 李星星, 汪路路, 孙福生. 基于离子液体的单滴液相微萃取-高效液相色谱法测定水中杀螨隆农药残留 [J]. *分析试验室*, 2011, 30 (3) : 73-76.

[13] 黄星, 马果花, 王芳琳, 等. 液相微萃取技术及其在毒物分析中的应用 [J]. *分析测试学报*, 2008, 27 (3) : 333-338.

[14] LUCCHESI M E, CHEMAT F, SMADIA J. An original solvent free microwave extraction of essential oils from spices [J]. *Flavour and Fragrance Journal*, 2004, 19 : 134-138.

[15] 宁洪良, 郑福平, 孙宝国, 等. 无溶剂微波萃取法提取花椒精油 [J]. *食品与发酵工业*, 2008, 34 (5) : 179-184.

[16] OKOH O O, SADIMENKO A P, AFOLAYAN A J. Comparative evaluation of the antibacterial activities of the essential oils of *Rosmarinus officinalis* L. obtained by hydrodistillation and solvent free microwave extraction methods [J]. *Food Chemistry*, 2010, 120 : 308-312.

[17] BASHEER C, LEE H K, OBBARD J P. Determination of organochlorine pesticides in seawater using liquid-phase hollow fibre membrane microextraction and gas chromatography-mass spectrometry [J]. *Journal of Chromatography A*, 2002, 968 : 191-199.

[18] 刘长文, 陶文靖, 程丽娅, 等. 超生提取-固相萃取小柱净化-气相色谱法测定土壤中 14 种有机氯农药 [J]. *岩矿测试*, 2009, 28 (6) : 541-554.

[19] ZHAO Z, ZHANG L, WU J, et al. Evaluation of dispersive Liquid-Liquid microextraction coupled with gas chromatography-microelectron capture detection (GC- μ ECD) for the determination of organochlorine pesticides in water samples [J]. *Analytical sciences*, 2011, 27 (5) : 547-553.

[20] 霍任锋, 沈韞芬, 徐盈. 利用 HS-SPME-GC 技术分析环境水样中超痕量的六氯苯, DDT 及其代谢产物 [J]. *环境化学*, 2004, 23 (6) : 695-699.

[21] SIBALI L L, OKONKWO J O, ZVINOWANDA C. Determination of DDT and metabolites in surface water and sediment using LLE, SPE, ACE and SE [J]. *Bulletin of Environment Contamination and Toxicology*, 2009, 83 (6) : 885-891.

作者简介

谭莉华 (1987-), 女, 硕士在读, 主要研究方向: 分析化学;
邹小兵 (1964-), 女, 博士, 讲师, 主要研究方向: 分析化学和药物合成;
夏之宁 (1961-), 男, 博导, 教授, 主要研究方向: 药物分析和微波化学。