

用微波消解气相色谱法测定 鱼肉中的有机氯农药^{*}

李攻科 何小青 熊国华 杨满芽 张展霞

(中山大学化学系 广州 510275)

摘 要 研究了微波消解-有机溶剂提取-气相色谱法测定鱼肉样品中有机氯农药的分析方法。对消解液、微波辅助加热条件及提取溶剂进行了优化实验,选择冰醋酸-高氯酸(体积比 4:1)在 600 W 微波功率下接受辐射 2 min 分解鱼肉样品,用 30% () 苯的石油醚溶液提取,对各种有机氯农药的回收率除 *p,p*-DDT 为 60.3% 外,其余均在 83.4%~109.6% 之间,与水浴加热分解的国家标准方法相当。该法具有快速、灵敏度、精确度、准确度高优点,适用于大批量食品和生物样品中有机氯农药的分析测定。

关键词 微波消解,有机氯农药,气相色谱法,鱼

有机氯农药 (OCPs) 是一类全球性环境污染物,对人和牲畜具有致癌、致畸、致突变等作用。其稳定的化学性质及具有的生物放大作用使分析工作者对环境及各种食品中有机氯农药含量的监测和分析高度重视。

在生态环境中,鱼类是食物链中的一个重要环节,因而准确、快速测定鱼组织中有有机氯农药具有重要意义。目前,测定鱼组织样品中 OCPs 的样品处理方法较多,主要有溶剂萃取法^[1]、固相萃取法^[2]、基质固相扩散法 (MSPD)^[3] 及超临界液相萃取法^[4] 等;我国国家标准方法^[5] 是利用水浴加热分解样品后用石油醚提取。但这些方法存在消耗溶剂量大或分析时间长的缺点。本文利用微波消解样品,使样品的分解过程在 2 min 内完成,待测物的回收率与水浴加热分解方法相当。本法大大缩短了样品处理时间,方法的灵敏度、精确度及准确度高,适用于大批量食品和生物样品的分析测定。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

MK-1 型压力自控微波炉(上海新科微波技术应用研究所); HP-4890 系列气相色谱仪带电子捕获检测器 (ECD, ⁶³Ni) 配 GI033A.04.02 工作站 (Hewlett-Packard, USA), 所用色谱柱为 HP1701 熔融石英毛细管柱 (30 m × 0.53 mm × 1.0 μm, 14% 氰丙基苯基聚硅氧烷)。HP-6890 气相色谱仪带质谱检测器 (MSD-5973) 配 GI701B.02.05 工作站 (Hewlett-Packard, USA), 所用色谱柱为 HP5-MS 熔融石英毛细管柱 (30 m × 0.25 mm × 0.25 μm, 5% () 聚苯甲基硅氧烷 + 95% () 聚二甲基硅氧烷); DL-633 型高级食物搅拌器 (顺德新宝电器公司)。

无水硫酸钠:分析纯,650℃ 灼烧 4 h (必要时可提高温度),贮于密封瓶内备用,用时先用正己烷淋洗。

高氯酸、冰醋酸、浓硫酸,分析纯;甲醇、乙醇、丙酮 (分析纯,广州化学试剂厂),使用前经全玻璃系统精制;石油醚、正己烷 (分析纯,广州化学试剂厂),用 KMnO₄-H₂SO₄ 水溶液和 KMnO₄-NaOH 水溶液各洗 3 次,水洗干燥后精馏备用。

有机氯农药标准: -HCH、-HCH、-HCH、-HCH、*p,p*-DDE、*p,p*-DDD、*o,p*-DDT、*p,p*-DDT 8 种物质混合标准 (广州化学试剂厂),各化合物质量浓度均为 100.00 mg/L,石油醚为溶剂。

1.2 仪器操作条件

GC 操作条件:进样口温度 250℃,检测器温度 300℃。采用程序升温,初始温度 80℃,保持 1 min 后以 10℃/min 升至 200℃,保持 0.5 min; 3℃/min 升至 230℃,保持 2 min; 15℃/min 升至 280℃,保持 5 min。

^{*} 广东省自然科学基金博士启动基金 (974078) 和教育部留学回国人员科研启动基金 (415409) 资助项目

收稿日期: 1999-01-27; 李攻科,女,35 岁,副教授

载气为高纯 N_2 , 流速 10 mL/min; 补偿气 60 mL/min; 阳极吹扫 6 mL/min。不分流进样, 进样量 2 μ L。

GC-MS 操作条件: EI 离子源, 电子能量 70 eV, 离子源温度 230 $^{\circ}C$, 四极杆温度 150 $^{\circ}C$, 电子倍增器电压 1 500 V; 进样口温度 250 $^{\circ}C$, 接口温度为 280 $^{\circ}C$; 质量扫描范围 30~550 u。初始温度 80 $^{\circ}C$, 保持 1 min 后以 10 $^{\circ}C$ /min 升至 200 $^{\circ}C$, 保持 0.5 min; 3 $^{\circ}C$ /min 升至 230 $^{\circ}C$, 保持 2 min; 15 $^{\circ}C$ /min 升至 280 $^{\circ}C$, 保持 5 min。 He 流速 1.0 mL/min, 不分流进样, 进样量 2 μ L。

1.3 分析步骤

1.3.1 样品的采集与制备 称取 500 g 去皮、去脊骨的草鱼肉(购于中山大学菜市场)置于食物搅拌器中, 搅拌制成匀浆。取出放入广口瓶中盖好, 如不立刻分析, 则置于 -10 $^{\circ}C$ 冰箱中保存。

1.3.2 加标样品的制备 准确称取一定量的鱼肉样品, 用注射器从不同部位加入有机氯农药标准, 制成含各种有机氯农药 4.0×10^{-9} 的加标样品, -4 $^{\circ}C$ 下放置至少 24 h 使其混合均匀。

1.3.3 微波消解鱼肉样品 准确称取 10 g 搅碎鱼肉样品于 PTFE 溶样杯中, 加入 4:1(体积比)的冰醋酸与高氯酸的混合溶液 20 mL, 盖好密闭活塞, 置于密闭试样罐中, 在微波溶样系统中接受微波辐射数分钟。将试样罐取出后以空气或水冷却至常压。

1.3.4 水浴加热分解鱼肉样品 准确称取搅碎鱼肉 10 g 于烧杯中加入 1:1(体积比)冰醋酸-高氯酸的混合液 20 mL, 盖上表面皿于 80 $^{\circ}C$ 水浴中加热消化 5 h。

1.3.5 微波消解及水浴分解液的净化 将微波或水浴消化液移入 250 mL 分液漏斗中, 用 30 mL 水分两次洗溶样杯或烧杯, 洗液合并于分液漏斗中。用 20 mL 30%()苯的石油醚溶液提取消化液 2~3 次, 合并提取液, 滴加浓硫酸(其量与提取液体积之比为 1:10), 轻轻振荡后, 静置分层, 去掉磺化层, 再按上述操作重复净化至提取液为无色。用 30 mL 50 g/L NaCl 溶液洗 2 次, 最后加入 8 g 无水 Na_2SO_4 干燥, 氮气吹扫浓缩至 1 mL, 用 GC 分析测定。

1.3.6 定性和定量测定 分别用 GC-MS 及 GC 对有机氯农药进行定性和定量分析, 进样量为 2 μ L。实验表明 α -HCH、 β -HCH、 γ -HCH、 δ -HCH、 p,p' -DDE、 p,p' -DDD、 o,p' -DDT、 p,p' -DDT 8 种标准在 0~400 μ g/L 之间有良好的线性关系, 检出限($S/N=5$)分别为 1.2、1.4、3.4、2.5、2.6、15.6、22.5、2.6 ng。

2 结果与讨论

2.1 溶剂处理

由于在环境样品中被测组分的浓度一般都较低, 因此分析中必须十分重视溶剂空白值问题。根据我们的实验结果, 普通的分析纯试剂即使经过全玻璃系统重蒸馏后也难以得到满意的结果。在溶剂处理方面主要采取氧化洗涤和精馏方法以除去干扰物质。

2.2 微波消解试剂的选择

为获得好的消解效果, 提高待测物的提取率, 本实验选择冰醋酸-高氯酸为微波消解试剂, 并对其体积比为 1:1、2:1、3:1 和 4:1 分别进行了试验。结果表明: 随着高氯酸在分解混合液中的比例不断减少, 有机氯农药的回收率提高。这主要是由于利用微波能在较高温度和压力下进行样品分解, 使高氯酸的氧化能力大大增强; 若分解混合液中高氯酸比例过高, 由于氧化能力过强, 反应过快, 易使样品发生碳化而使有机氯农药的回收率降低; 同时由于分解反应为放热反应更增强了这种趋势。实验中发现体积比为 1:1 的混合液能观察到明显的黑色颗粒, 而体积比为 4:1 的混合液则没有碳化现象; 故本实验选择 4:1 冰醋酸-高氯酸混合液为分解液。

2.3 微波加热条件的优化

在微波辅助处理样品的实验中, 实验过程主要由微波功率和微波辐射时间来控制。为获得最好的回收率, 这两个参数必须细心选择, 同时又要避免由于过压而形成的泄漏和分析物的损失。本实验用 20 mL 体积比为 4:1 的冰醋酸-高氯酸处理 10 g 鱼肉样品, 就微波功率(分别为 198 W、330 W、600 W)和微波辐射时间(从 1 min 至 3 min)作了系统的实验, 其结果列于表 1。从表 1 结果可知: 600 W 微波功率接受辐射 2~3 min,

除 p, p -DDT 回收率 (60.3%) 较低外, 其它有机氯农药都能定量回收, 其回收率在 82.3% ~ 114.5% 之间。为防止因加热时间过长而造成的泄漏和待测物挥发和分解损失, 本实验选用 600 W 功率接受辐射 2 min 为最佳微波加热条件。另外, 从表 1 还可看出, 几乎所有条件下 p, p -DDE 的回收率偏高而 p, p -DDT 的回收率却偏低, 这主要是由于 p, p -DDT 在高温高压下易分解成 p, p -DDE 的缘故。

表 1 微波功率与微波辐射时间对有机氯农药回收率的影响
Table 1 Effects of microwave power and radiation time on the recoveries of OCPs

OCPs	R/ % (RSD < 5.6%, $n=3$)								
	198 W			300 W			600 W		
	1 min	2 min	3 min	1 min	2 min	3 min	1 min	2 min	3 min
- HCH	58.3	65.3	73.8	62.5	75.2	87.2	70.6	86.9	84.4
- HCH	65.2	70.9	76.4	68.1	73.6	84.6	75.9	91.8	82.3
- HCH	57.4	66.5	75.1	66.4	74.2	81.2	72.5	88.3	88.2
- HCH	66.8	73.7	80.2	72.9	78.6	88.2	82.1	95.7	94.9
p, p -DDE	92.3	101.5	108.4	98.7	105.7	112.2	103.2	109.6	114.5
o, p -DDD	60.3	69.8	76.5	71.5	76.1	82.6	74.2	83.4	82.3
o, p -DDT	67.5	75.3	82.1	72.4	77.5	85.5	75.7	91.3	89.5
p, p -DDT	57.1	62.6	54.7	63.8	58.6	58.5	66.2	60.3	59.5

2.4 提取剂的选择

对分解鱼肉样品中有机氯农药的提取, 比较了石油醚和 30% 苯的石油醚溶液的效果, 发现用前者时易在水相与有机相之间形成一层悬浮层, 且分层时间较长, 用后者可克服上述不足, 分层较易且明显。为消除同时萃取的脂肪酸、蛋白质等对有机氯农药的测定干扰, 本实验用浓硫酸氧化去除这些物质。

2.5 微波辅助消解与水浴加热分解方法的比较

为验证方法的准确性, 本实验进行了微波辅助消解与国家标准方法水浴加热分解方法的比较, 其结果列于表 2。从表 2 结果可知, 与后者(回收率 83.8% ~ 102.5%) 相比, 微波辅助消解测定鱼组织样品中有机氯农药的方法可得到与之相当的结果(回收率除 p, p -DDT 为 60.3% 外, 其余为 83.4% ~ 109.6%, 这是由于在微波能作用的高温密闭罐中, p, p -DDT 有部分分解的缘故), 但微波辅助加热过程所得结果的精确度较好, 方法灵敏度高, 且加热时间大大减少。这主要是由于样品在微波能的作用下, 特别是在加压条件下, 样品和酸的混合物吸收微波能量后, 酸的氧化反应活性增加, 使样品表面层搅动、破裂, 不断产生新的样品表面与酸溶剂接触, 并形成象自由基这类中间体, 促进化合物的化学分解, 使有机氯农药易于提取。

表 2 微波辅助消解与水浴加热分解萃取鱼肉样品中有机氯农药方法比较
Table 2 Comparison of the extraction of OCPs in fish sample using MAD and waterbath-heating digestion

Sample *	w/ 10^{-9}							
	- HCH	- HCH	- HCH	- HCH	p, p -DDE	p, p -DDD	o, p -DDT	p, p -DDT
A	0.4 ± 0.01	0.5 ± 0.01	1.2 ± 0.3	0.8 ± 0.07	3.1 ± 0.4	1.4 ± 0.05	1.2 ± 0.04	1.0 ± 0.07
B	0.4 ± 0.02	-	-	-	3.1 ± 0.5	-	-	1.8 ± 0.1
C	3.6 ± 0.2	3.8 ± 0.2	4.9 ± 0.4	4.6 ± 0.3	7.2 ± 0.3	5.0 ± 0.1	4.8 ± 0.5	3.4 ± 0.4
D	3.6 ± 0.4	3.2 ± 0.6	3.5 ± 0.8	3.0 ± 0.4	7.0 ± 0.6	3.3 ± 0.2	3.4 ± 0.6	4.5 ± 0.1

*A 为 10 g 鱼肉样品, C 为 10 g 鱼肉 + 4.0×10^{-9} 标样, 采用微波法处理 (A. 10 g fish sample, C. 10 g fish sample added 4×10^{-9} OCPs, treated with MAD digestion); B 为 10 g 鱼肉样品, D 为 10 g 鱼肉 + 4.0×10^{-9} 标样, 在 80 °C 水浴中加热分解 5 h (B. 10 g fish sample, D. 10 g fish sample added 4×10^{-9} OCPs, treated with waterbath-heating digestion at 80 °C for 5 h)

" - " 表示检测不出 (undetected)

2.6 微波消解与微波萃取法的比较

微波萃取法以其高效率、省时、省溶剂等优点逐渐成为分析工作者首选的萃取样品中有机物的方法, 因而本实验作了微波萃取(MAE)与微波消解(MAD)方法的比较。微波萃取采用了 2 个方案: a. 10 g 加标样品加入 25 mL 正己烷 + 丙酮 (体积比 1 : 1) 在 600 W 功率下微波加热 4 min; b. 10 g 加标样品, 加入无水 Na_2SO_4 研磨

至干后,加入 25 mL 正己烷 + 丙酮 (体积比 1 : 1) 于 600 W 功率下微波加热 4 min, 其结果列于表 3。因鱼肉中含水量较高 (一般达到 60 % ~ 80 %), 阻碍了溶剂向鱼肉内部渗透, 同时也不利于 OCPs 向溶剂中转移, 因而直接微波萃取有机氯农药回收率明显低于微波消解法; 而在样品经无水硫酸钠干燥后, 其待测物回收率有较大提高, 但同时由于加入的无水硫酸钠使溶剂与样品的接触面减少, 且在分出溶剂时有些富含有机氯农药的脂类物质不易倒出, 使有机氯农药回收率普遍偏低, 因而微波萃取法较适应于干燥样品, 而对于富含水的样品, 为避免每个样品的干燥步骤, 宜采用微波辅助消解后溶剂萃取法。

表 3 微波消解与微波萃取法的回收率比较

Table 3 Comparison of microwave-assisted digestion and microwave-assisted extraction in recovery

OCPs	R/ %		
	MAD	MAE	MAE
- HCH	86. 9	62. 1	87. 8
- HCH	91. 8	57. 1	85. 4
- HCH	88. 3	71. 8	82. 6
- HCH	95. 7	75. 5	83. 6
<i>p, p</i> -DDE	109. 6	86. 4	89. 8
<i>p, p</i> -DDD	83. 4	77. 8	81. 9
<i>o, p</i> -DDT	91. 3	89. 2	85. 0
<i>p, p</i> -DDT	60. 3	75. 1	84. 5

3 结 论

本文优化了微波辅助消解, 有机溶剂提取测定鱼肉样品中有机氯农药方法的条件。10 g 样品加入 20 mL 冰醋酸 - 高氯酸 (体积比 4 : 1) 在 600 W 微波功率下接受辐射 2 min, 有机氯农药能定量回收 (除 *p, p* -DDT 稍低外), 与水浴加热分解方法的结果相当。本法快速, 灵敏度、精确度和准确度高, 大大减少了样品分析时间, 适用于食品、生物等大批量样品的定性或定量测定。

参 考 文 献

- Newsome W H, Andrews P, Conacher H B S, et al. Total organochlorine content of fish from the Great Lakes. J AOAC International, 1993, 76(4) : 703
- Molt C, Lejeune B, Prognon P, Pradeau D. GC - MS determination of organochlorine pesticides in five medicinal plants. J Environ Anal Chem, 1994, 54(1) : 81
- Torres C M, Hc ó Y, Ma es J. Analysis of pesticides residues in fruit and vegetables by matrix solid phase dispersion (MSPD) and different gas chromatography element-selective detectors. Chromatographia, 1995, 41(11 - 12) : 685
- Eler K I, Lehotay S J. Evaluation of hydriatrix and magnesium sulfate drying agents for SFE of multiple pesticides in produce. Analyst, 1997, 122(5) : 429
- 中国预防医学中心研究所负责起草. GB5009. 19 - 85 食品中六六六、滴滴涕残留量的测定方法. 北京: 中国标准出版社, 1985

Determination of Organochlorine Pesticides in Fish Sample by GC Using Microwave-assisted Digestion

Li Gongke, He Xiaoqing, Xiong Guohua, Yang Many, Zhang Zhanxia

(Department of Chemistry, Zhongshan University, Guangzhou 510275)

Abstract A method of microwave-assisted digestion for the determination of organochlorine pesticides in fish sample by GC - ECD was developed. The optimum conditions for digestion and extraction, such as the digestion-solvent composition, microwave-assisted digestion pressure and time, extraction solvent type and composition were studied in detail. The experimental results indicated that all of organochlorine pesticides except for *p, p* -DDT could be quantitatively recovered under the optimum conditions. The analysis results agree quite well with those obtained by traditional method of waterbath-heating digestion. The method is rapid, efficient and accurate.

Keywords Microwave-assisted digestion, Organochlorine pesticide, Fish, Gas chromatography