

改性多壁碳纳米管固相萃取-高效液相色谱法 测定农产品中痕量残留的 4 种有机氯农药

彭晓俊*, 庞晋山, 邓爱华, 梁伟华, 梁优珍, 温绮靖

(新会出入境检验检疫局, 广东 江门 529100)

摘要: 对多壁碳纳米管(MWNTs)的表面进行酸氧化处理制备了改性的 MWNTs,并建立了以改性 MWNTs 作为固相萃取(SPE)吸附剂测定农产品中痕量残留的 4 种有机氯农药(*p,p'*-DDD、*p,p'*-DDT、*o,p'*-DDT、*p,p'*-DDE)的 SPE-高效液相色谱(HPLC)分析方法。考察了氧化处理条件、SPE 操作条件和色谱条件等对有机氯农药残留测定的影响,优化了实验条件。在优化实验条件下 4 种农药在较宽线性范围内线性良好 相关系数为 0.997 8~0.999 5 检出限为 0.050 mg/L;在样品中分别添加 0.10、2.0、50 mg/L 的 4 种农药,其加标回收率为 78%~104%,相对标准偏差(RSD)为 2.7%~7.6%。MWNTs 作为 SPE 填料用于陈皮、西洋参、卷心菜和茶叶等样品的净化效果良好,测定结果准确,灵敏度高,符合农产品中痕量农药残留的分析方法要求,为农产品中此类农药的痕量残留分析提供了有益的参考。

关键词: 改性多壁碳纳米管;固相萃取;高效液相色谱;有机氯农药;农产品

中图分类号: O658

文献标识码: A

文章编号: 1000-8713(2012)09-0966-05

Determination of the trace residues of four organochlorine pesticides in agricultural products by high performance liquid chromatography with modified multi-walled carbon nanotubes as solid phase extraction adsorbent

PENG Xiaojun*, PANG Jinshan, DENG Aihua, LIANG Weihua, LIANG Youzhen, WEN Qijing

(Xinhui Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Jiangmen 529100, China)

Abstract: A novel method for the simultaneous determination of the trace residues of four organochlorine pesticides such as *p,p'*-DDD, *p,p'*-DDT, *o,p'*-DDT and *p,p'*-DDE in agricultural products by multi-walled carbon nanotubes (MWNTs) modified by acid oxidation on the surface as solid phase extraction (SPE) adsorbent coupled with high performance liquid chromatography (HPLC) was developed. The effects of the surface acid oxidation, SPE operations and HPLC conditions on the determination of the four pesticide residues were investigated. Under the optimized experimental conditions, the novel method provided wide linear ranges for the pesticides with correlation coefficients of 0.997 8–0.999 5, the detection limit was 0.050 mg/L for each pesticides. The recoveries from the samples spiked with the pesticide standards at three concentration levels of 0.10, 2.0 and 50 mg/L were in the range of 78%–104% with the relative standard deviations (RSDs) of 2.7%–7.6%. This study indicated the MWNTs SPE was an efficient clean-up method to agricultural products (included dried orange peel, gin-seng, cabbage and tea). The proposed method showed the advantages of accuracy and sensitivity, and can meet the requirements for the determination of low residue pesticide in agricultural products. The study provides a useful method for the analysis of trace substance of agricultural products.

Key words: modified multi-walled carbon nanotubes; solid phase extraction (SPE); high performance

* 通讯联系人: 彭晓俊, 硕士, 工程师, 研究方向为理化分析. Tel: (0750) 6312076, E-mail: peng2129@yahoo.com.cn.

基金项目: 广东检验检疫局科技计划项目(2012GDK62).

收稿日期: 2012-05-06

liquid chromatography (HPLC); organochlorine pesticides; agricultural products

有机氯农药因其高稳定性、难降解性和生物累积效应在环境中持久存在^[1],危害人类健康和环境安全。1983年我国开始禁止生产使用滴滴涕(DDT)等有机氯农药,但该类农药仍然可以在环境介质^[2]和农产品^[3]中检出。对此类农药残留多采用气相色谱-电子捕获法(GC-ECD)测定,但大多数农产品在样品前处理之后的溶液颜色较深,存在的色素对高灵敏度的ECD检测器产生干扰,而且色素还会污染仪器的进样系统、色谱柱和检测器;此外,GC法前处理操作繁琐、费时、溶剂用量大,从而限制了GC方法的使用^[4]。

多壁碳纳米管(MWNTs)吸附能力强,已有文献报道用于水样中有机磷^[5,6]、有机氯^[7,8]农药以及除草剂^[9]样品的前处理富集与净化。但未处理的MWNTs因其大的比表面和相互之间的范德华作用,经常会聚集成致密的网络,使得它在有机或水溶液中的分散很差,并且由于其表面缺少亲水的官能基团,使得它在水中的分散性尤其差^[10],这些缺点对其在吸附材料领域的应用产生了不利影响。通过对MWNTs进行表面处理可提高其在溶剂中的分散性。MWNTs管端和侧壁的缺陷处容易进行化学反应,其碳原子上的 π 电子可与其他有 π 电子体系的化合物通过 π - π 堆积作用结合,从而进行各种衍生化学修饰^[11],这为改善和消除MWNTs的缺点提供了可能。本文用强氧化性酸对MWNTs进行酸处理,使其表面存在一定量的羟基、羧基^[12]等活性官能基团,改性的MWNTs在有机溶剂中有很好的分散性。本文以改性的MWNTs作为固相萃取(SPE)填料用于蔬菜、中药材等农产品中痕量残留的4种有机氯农药的提取、浓缩、净化,并采用高效液相色谱法(HPLC)测定,有效地消除了基质效应,所建立的方法灵敏度高,能满足实际检测工作的需要。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

LC-20 AT HPLC仪,包括SPD-M20A二极管阵列检测器(日本岛津公司);DZF-6050真空干燥箱(上海精密仪表公司);KQ2200DB型超声振荡器(昆山超声仪器有限公司);2-16型通用台式高速离心机(德国Sigma公司);SC-25A恒温油浴槽(南京舜玛仪器公司);0.22 μm 聚四氟乙烯微孔滤膜(美国密理博公司);SPE装置(美国Supelco公司);SPE空柱管(6 mL,上海德理安公司)。

MWNTs(纯度>95%,直径10~20 nm,长度0.5~500 μm ,深圳市纳米港有限公司);4种农药标准品(美国Accustandard公司);甲醇、乙腈(色谱纯,德国默克公司);浓硫酸、浓硝酸(分析纯,广州试剂厂);二氯甲烷(分析纯,天津富宇公司);实验用水为去离子蒸馏水。

1.2 HPLC条件

色谱柱:Shim-pack VP-ODS C_{18} 柱(250 mm $\times$ 4.6 mm,5 μm);流动相:甲醇(A)和水(B);梯度洗脱程序:5 min内由9% A增加到28% A,7 min内由28% A增加到94% A,保持5 min后降到9% A,保持7 min;流速:1.00 mL/min;柱温:35 $^{\circ}\text{C}$;进样体积:20 μL ;检测波长:238 nm。

1.3 MWNTs SPE柱

1.3.1 MWNTs表面氧化处理

称取1.20 g MWNTs置于500 mL单口烧瓶中,加入90 mL浓硫酸,超声振荡2 h;再向烧瓶中加入30 mL浓硝酸,超声振荡1 h;移入恒温油浴槽中,于120 $^{\circ}\text{C}$ 下回流1 h,冷却,静置,小心用吸管吸除上层混酸清液,然后加入1000 mL去离子水稀释,稀释液过微孔滤膜,反复用水冲洗滤渣10次以上直至滤液的pH值为7,所得黑色固体经真空烘箱50 $^{\circ}\text{C}$ 下干燥即得被氧化的MWNTs。

1.3.2 装柱及活化

称取1.3.1节制备的MWNTs 0.50 g装入6 mL SPE空柱管中,轻轻敲打使填料均匀填充,放置上下筛板。使用前依次用5 mL甲醇、5 mL水活化。

1.4 样品处理

称取25.00 g试样粉末于100 mL具塞离心管中,加入50 mL乙腈,超声提取30 min,再剧烈振荡提取5 min,于10000 r/min速率下离心10 min,吸取5 mL上清液并转移至MWNTs SPE柱中,调节真空泵的压力使整个SPE过程的流速不超过1 mL/min,依次用5 mL水和5 mL甲醇淋洗,真空抽干30 min,除水30 min,用5 mL二氯甲烷洗脱,洗脱液用氮气吹干,残留物用0.5 mL甲醇/水(50/50, v/v)定容,振荡1 min,过微孔滤膜,滤液供HPLC测定。

2 结果与讨论

2.1 MWNTs表面氧化处理方法的优化

2.1.1 MWNTs表面氧化处理方法的改进

Liu等^[13]用浓硫酸和浓硝酸组成的混酸对碳纳

米管进行了化学切割,并在切割开的碳纳米管的表面生成一定量的含氧官能基团。本文实验方法与 Liu 的工艺不同,先在超声条件下将浓硫酸与 MWNTs 两者混合均匀,并进行一些预反应以除去 MWNTs 表面残留的金属催化剂颗粒,然后再加入浓硝酸充分混合均匀后将反应体系放入 120 ℃ 的恒温油浴中回流。这种方式能使得混酸和碳纳米管充分接触,进而提高反应的效率,反应结束时将反应混合物倒入 1 000 mL 冷的去离子水中来终止反应(改性流程见图 1)。

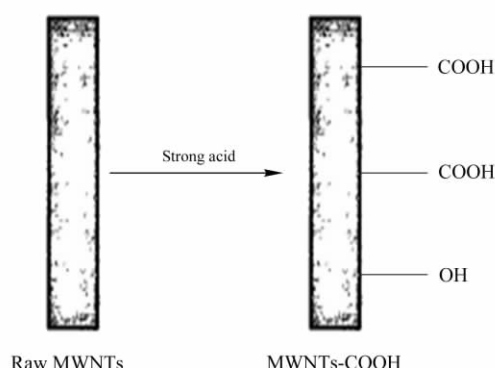


图 1 MWNTs 改性方法示意图
Fig. 1 Scheme of modification of MWNTs

氧化处理前后的 MWNTs 的透射电镜照片见图 2。与未经氧化处理的碳纳米管相比,经氧化处理所得的 MWNTs 分散比较均匀,长度分布也比较均匀,有一定的长径比。这说明本文所采用的氧化处理体系和方法比较适中。将酸化前后的 MWNTs 做傅里

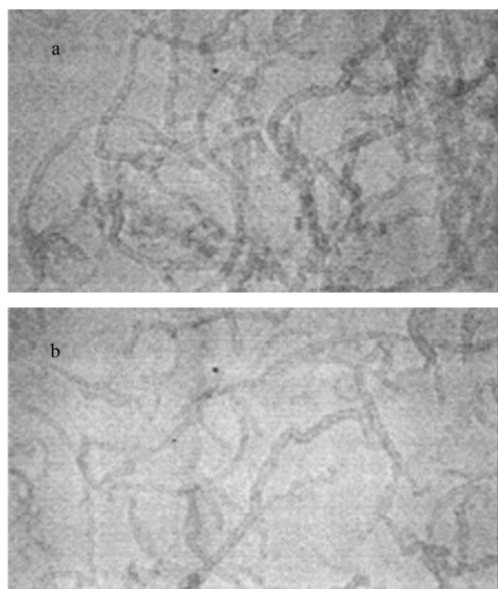


图 2 (a) 未经氧化处理和(b)混酸氧化回流后所得多壁碳纳米管的透射电镜照片
Fig. 2 Transmission electron microscopy (TEM) images of MWNTs of (a) untreated and (b) refluxed treated with an acid mixture

叶变换红外光谱 (FT-IR) 测试,结果酸化后的 MWNTs 在特征峰 $3\,734\text{ cm}^{-1}$ 处出现羧基的特征峰,在 $3\,414\text{ cm}^{-1}$ 处出现了羟基的伸缩振动峰,因此可以确证 MWNTs 的表面产生了羟基和羧基的官能基团。

2.1.2 MWNTs 表面氧化回流时间的选择

用混酸氧化 MWNTs 可以生成功能基团,但是破坏了其原始结构,使其长度变小,管壁受到不同程度的腐蚀。为了保证混酸氧化所得到的 MWNTs 具有相对完整的结构和一定的长径比,本文做了 3 组平行实验,即物料配方和处理条件均相同,只是回流时间不同(分别为 30、60 和 90 min)。采用减压过滤的方法分离和收集经氧化处理的 MWNTs 滤渣,并用透射电镜观察变化。回流时间为 30 min 时,氧化后的 MWNTs 长度比未经氧化处理的 MWNTs 有一定的减少,分散不够均匀;回流时间为 60 min 时,氧化后 MWNTs 长度比未经氧化处理的 MWNTs 明显变短,两端明显开口,而且长度分布比较均匀(约为 300 ~ 800 nm),分散也较为均匀;回流时间为 90 min 时,氧化后的 MWNTs 很短、很碎,过滤过程中几乎全部通过了滤膜微孔,在滤膜上没有收集到黑色固体,氧化后的 MWNTs 长度非常短,长径比很小,侧壁变得模糊,而且直径变小说明受到了很严重的氧化腐蚀。因此确定氧化回流时间为 60 min 得到 MWNTs 比较合适。

2.2 MWNTs SPE 柱操作条件的优化

SPE 柱管中装填的 MWNTs 的质量、填装高度和紧密程度等对实验结果的重复性有明显影响。为获得良好的重复性,实验时所用的 SPE 柱要固定填料用量,填充要一次性完成,填装高度以及填装的紧密程度要合适,并且净化过程中流速不得超过 1.00 mL/min。

农产品中含蛋白质、脂肪、色素、碳水化合物等干扰物质,不经纯化直接测定时杂质峰分离不开,易出现假阳性结果。为了去除干扰,试验考察了用水、依次用水和甲醇淋洗萃取柱的情况。结果在淋洗液中增加甲醇,淋洗液的极性降低,能有效去除杂质峰的干扰且农药的回收率较高,因此选择依次用水和甲醇淋洗 SPE 柱。

MWNTs 被强酸氧化后表面含有一定量的羧基、羟基功能基团,因而痕量的农药能被 MWNTs 牢牢地吸附,用水和甲醇淋洗过柱,可以有效去除样品中水溶性及脂溶性杂质。有机氯农药疏水性强,为了洗脱、富集有机氯农药,洗脱剂选择试验考察了丙酮、正己烷和二氯甲烷等溶剂。结果发现以二氯甲

烷作洗脱剂时的有机氯农药的回收率较高(见图 3), 因此选择用二氯甲烷作洗脱液。

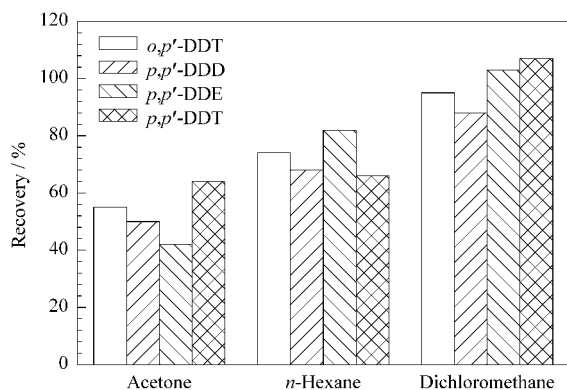


图 3 洗脱剂对有机氯农药富集回收率的影响

Fig. 3 Effects of eluants on eluted recoveries of organochlorine pesticides

2.3 与其他 SPE 吸附填料的比较

本实验将 MWNTs 作为 SPE 吸附填料应用于农产品中有机氯农药的分析检测。为了考察 MWNTs 作为吸附填料对有机氯农药的富集能力, 本实验室对 MWNTs 柱、弗罗里硅土柱和 C_{18} 柱的吸附性能进行了比较。结果表明, 弗罗里硅土柱洗脱液为浅黄色、浅绿色或绿色, 对目标化合物色谱峰有干扰; MWNTs 柱和 C_{18} 柱洗脱液几乎无色, 对目标化合物色谱峰无干扰。在陈皮中添加 0.10 mg/L 的混合

标准品, 分别过 MWNTs 柱和 C_{18} 柱, MWNTs 柱的农药回收率范围为 78%~92%, C_{18} 柱的农药回收率范围为 46%~64%, 因此选择 MWNTs 作为 SPE 吸附填料, 这也表明 MWNTs 作为 SPE 吸附填料有着可观的应用前景。

2.4 色谱条件的优化

采用等度洗脱很难找到一个适宜的溶剂强度, 使目标化合物在合理时间内全部流出色谱柱, 并具有良好的分离度, 因此本文采用梯度洗脱。通过实验考察, 采用 1.2 节给出的梯度条件, 目标化合物色谱峰能和相邻杂质峰完全分离, 因此选择甲醇-水混合溶液作为流动相进行梯度洗脱。

2.5 线性范围、精密度和检出限

用甲醇/水(50/50, v/v) 配制 *p,p'*-DDD、*p,p'*-DDT、*o,p'*-DDT 和 *p,p'*-DDE 均为 0.020、0.10、0.50、2.0、10、50 mg/L 的混合标准溶液。在优化后的色谱条件下测定, 分别以峰面积 Y 对质量浓度 X (mg/L) 做工作曲线, 4 种有机氯农药在 0.020~50 mg/L 范围内有良好的线性关系, 满足测定的要求。平行测定质量浓度为 10 mg/L 混合标准溶液 6 次, 计算其峰面积的相对标准偏差(RSD)。根据国际纯粹与应用化学联合会(IUPAC)的规定, 以 3 倍信噪比($S/N=3$) 计算方法的检出限。表 1 为方法的线性范围、线性方程、相关系数、检出限和精密度。

表 1 4 种有机氯农药的线性范围、线性方程、相关系数、检出限和精密度

Table 1 Linear ranges, linear equations, correlation coefficients (r), detection limits and precisions (RSD) of the method

Compound	Linear range/(mg/L)	Linear equation	r	Detection limit/(mg/L)	RSD/% ($n=6$)
<i>p,p'</i> -DDD	0.020–50	$Y=10799X+2826$	0.9995	0.050	6.4
<i>p,p'</i> -DDT	0.020–50	$Y=8887X+3514$	0.9986	0.050	3.8
<i>o,p'</i> -DDT	0.020–50	$Y=12117X+3008$	0.9984	0.050	5.8
<i>p,p'</i> -DDE	0.020–50	$Y=13635X-2110$	0.9978	0.050	4.2

Y : peak area; X : mass concentration, mg/L.

2.6 实际样品分析

在上述最优条件下测定了陈皮、西洋参、卷心菜和茶叶等多个样品, 测定结果表明这些样品均为阴性样品。分别在每个样品中加入 0.10、2.0、50

mg/L 3 种水平的混合标准溶液, 测定 4 种农药的回收率, 结果见表 2。4 种农药的回收率为 78%~104%, RSD 为 2.7%~7.6%, 满足痕量分析的要求。实际样品和加标陈皮样品的色谱图见图 4。

表 2 4 种农药的加标回收率及相对标准偏差($n=6$)

Table 2 Spiked recoveries and RSDs of four pesticides ($n=6$)

Sample	Compound	Spiked at 0.10 mg/L		Spiked at 2.0 mg/L		Spiked at 50 mg/L	
		Recovery	RSD	Recovery	RSD	Recovery	RSD
Dried orange peel	<i>p,p'</i> -DDD	88	3.7	96	5.2	94	4.5
	<i>p,p'</i> -DDT	92	6.6	88	3.8	101	4.8
	<i>o,p'</i> -DDT	83	5.8	97	6.2	99	5.7
	<i>p,p'</i> -DDE	78	4.1	95	5.1	97	6.3
Cabbage	<i>p,p'</i> -DDD	91	5.4	97	4.5	95	3.7
	<i>p,p'</i> -DDT	85	4.6	96	5.7	93	5.3
	<i>o,p'</i> -DDT	92	6.4	94	2.7	103	4.8
	<i>p,p'</i> -DDE	88	7.6	103	4.2	104	3.7

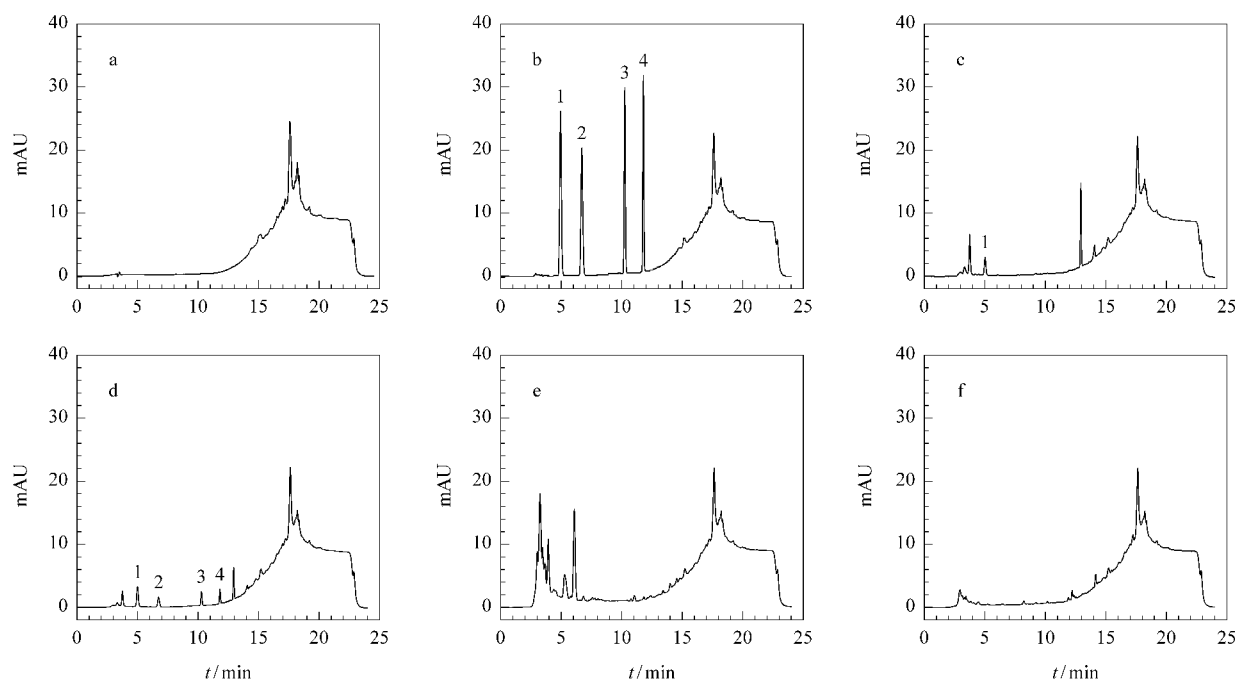


图 4 (a) 试剂空白样品、(b) 2.0 mg/L 混合标准溶液、(c) 陈皮样品、(d) 陈皮添加 0.10 mg/L 标准品、(e) 茶叶样品和(f) 卷心菜样品的色谱图

Fig. 4 Chromatograms of (a) a solvent blank sample, (b) 2.0 mg/L mixed standard solution, (c) a dried orange peel sample, (d) a dried orange peel sample spiked with 0.10 mg/L standards, (e) a tea sample and (f) a cabbage sample

Peaks: 1. *p p'*-DDD; 2. *p p'*-DDT; 3. *o p'*-DDT; 4. *p p'*-DDE.

3 结论

本文通过氧化制得改性的 MWNTs 并将其作为 SPE 吸附填料结合 HPLC 技术用于测定农产品中的 4 种有机氯农药,方法的加标回收率为 78%~104%, RSD 为 2.7%~7.6%,检出限为 0.050 mg/L,满足了农产品中农残痕量分析的要求。改性 MWNTs 作为 SPE 柱用于 DDT 农药测定的报道不多,因此 MWNTs 在目标化合物痕量分析领域有着不可估量的应用前景,可望作为一种新型、有潜力的 SPE 吸附填料用于农药残留、兽药残留等的检测。

参考文献:

- [1] Liu Q K, Zhu G N. Recently Edited Handbook of Pesticide Uses. 2nd ed. Shanghai: Shanghai Scientific and Technical Publishers (刘乾开,朱国念. 新编农药使用手册. 2 版. 上海: 上海科学技术出版社), 2009
- [2] Qiu X, Zhu T, Yao B, et al. Environ Sci Technol, 2005, 39: 4385
- [3] Giou P P, Lilapis K S, Miliadis G E. Intern J Environ Anal Chem, 2006, 86: 69
- [4] Otero R R, Grande B C, Gandara J S. J Chromatogr A, 2003, 992: 121
- [5] Katsumata H, Matsumoto T, Kaneco S, et al. Microchem J, 2008, 88(1): 82
- [6] Ravelo-Pérez L M, Hernández-Borges J, Rodríguez-Delgado M A. J Sep Sci, 2008, 31(20): 3612
- [7] Wang S, Zhao P, Min G, et al. J Chromatogr A, 2007, 1165: 166
- [8] Zhao H X, Jia Y X, Ding M Y, et al. Chinese Journal of Chromatography (赵海香, 贾艳霞, 丁明玉, 等. 色谱), 2011, 29(5): 443
- [9] Dong M F, Ma Y Q, Zhao E C, et al. Microchim Acta, 2009, 165(1/2): 123
- [10] Tan C J, Hong C G, Ker K H, et al. Anal Chem, 2008, 80(3): 683
- [11] Valcarcel M, Cardenas S, Simonet B M. Anal Chem, 2007, 79: 4788
- [12] Moon C Y, Kim Y S, Lee E C. Phys Rev B, 2002, 65(15): 1
- [13] Liu J, Rinzler A G, Dai H J, et al. Science, 1998, 280: 1253