

溶剂去乳化分散液-液微萃取-高效液相色谱法 测定水样中甲基对硫磷

祝本琼 陈浩 李胜清

华中农业大学理学院, 武汉 430070

摘要 将萃取剂和分散剂的混合液快速注入水样, 获得雾化体系, 向雾化体系中直接注入乙腈作为去乳化剂促使混合液分相, 避免了离心步骤。以三氯乙烯为萃取剂, 考察了分散剂体积、萃取剂体积、去乳化剂体积等因素对萃取率的影响。在优化条件下, 建立的方法在 1~40 $\mu\text{g/L}$ 质量浓度范围内呈现出良好的线性 ($R^2 = 0.9998$); 对甲基对硫磷的检出限 ($S/N=3$) 为 0.03 ng/mL。建立的方法平行测定 5 份质量浓度为 10 ng/mL 的甲基对硫磷水样, 相对标准偏差为 3.3%。本方法已成功用于实际水样分析, 平均回收率为 73.9%~84.8%。

关键词 溶剂去乳化; 分散液-液微萃取; 甲基对硫磷; 水样; 高效液相色谱

中图分类号 O 657.72 **文献标识码** A **文章编号** 1000-2421(2013)01-0063-05

研制快速、高效、对环境友好的微型化样品前处理技术, 一直是分析化学的研究热点。分散液-液微萃取 (DLLME) 作为一种新型液相微萃取模式, 具有操作简单、快速、高效等优点, 受到分析工作者的高度关注^[1-3]。该萃取过程一般采用适量分散剂与微升级萃取剂混合, 一并注入水相, 形成萃取剂/分散剂/水乳浊体系, 萃取后, 通过离心使两相分离, 取出部分析出相进样分析。虽然该过程中萃取剂以超微液滴形式高度分散在水相中, 与分析物充分接触, 使得萃取能够快速达到平衡, 但是一般需通过离心使有机相与水相有效分离。离心步骤往往是其中耗时最长的环节。笔者所在课题组提出基于轻质溶剂的溶剂(去乳化)终止分散液-液微萃取技术^[4], 将甲苯(萃取剂)和乙腈(分散剂)的混合液快速注入水相, 形成以甲苯微滴高度分散的雾化体系。与传统 DLLME 不同的是, 该技术在萃取结束后不需要离心, 而是向雾化体系中加入一定量有机溶剂(乙腈)作为去乳化剂, 促进萃取剂微滴的聚集, 实现有机相与水相的分离。该技术具有操作简单、快速、可利用无氟轻质溶剂(密度小于水)等特点, 已成功应用于环境水样中氨基甲酸酯类农药^[4]。该技术受到同行关注, Zacharis 等^[5]将其用于有机氯农药的测定; Guo 等^[6]对环境水样中 16 种多环芳烃痕量污染物

实现了快速预富集、测定并比较了其与传统 DLLME 技术的分析性能, 进一步显示了该方法的实际应用潜力。

甲基对硫磷 (methyl parathion) 是应用最为广泛的有机磷农药之一, 具有毒性强、使用广泛且残留时间长等特征。准确测定各种水样中甲基对硫磷的含量对评价水环境具有重要意义。因此, 笔者以甲基对硫磷为分析对象, 探讨溶剂去乳化技术应用于常规 DLLME (萃取剂的密度大于水) 的可能性, 以避免离心分相步骤, 简化操作, 加快分析速度、提高分析效率。以三氯乙烯为萃取剂, 进行三因素三水平的正交试验, 考察分散剂体积、萃取剂体积、去乳化剂体积等因素对萃取效率的影响, 建立以重质溶剂为萃取剂的溶剂去乳化分散液-液微萃取样品前处理技术。

1 材料与方法

1.1 主要仪器与试剂

Agilent1100 高效液相色谱仪, Agilent, USA; Purelab ultra 超纯水仪, 英国 ELGA 公司; Mettler-Toledo AE100 电子分析天平, 梅特勒-托利多仪器有限公司; 微型进样器, 上海高鸽工贸有限公司; KY-1000 III 移液枪, 北京青云航空仪表有限公司。

收稿日期: 2011-12-11

基金项目: 国家自然科学基金(20705009)、教育部新教师基金(20070504039)和中央高校基本科研业务费专项资金(2011PY128)

祝本琼, 硕士研究生, 研究方向: 应用化学. E-mail: zhuben11@163.com

通讯作者: 李胜清, 博士, 副教授. 研究方向: 环境分析. E-mail: sqingli@mail.hzau.edu.cn

甲基对硫磷购于国家农药标准物质中心,用色谱纯甲醇配制 10 mg/mL 作为标准储备液,在 $-4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 条件下贮藏。其他试剂均为分析纯。

1.2 色谱条件

色谱柱: Agilent XDB-C18 (150 mm \times 4.6 mm, 3.5 μm , USA); 流动相为甲醇(色谱级): 水 = 85 : 15; 流速为 0.2 mL/min; 柱温 $25\text{ }^{\circ}\text{C}$; 波长 275 nm; 进样体积 5 μL 。

1.3 样品预处理

所有玻璃仪器使用酸浸泡过夜后再用去离子水润洗后晾干。水样取自长江(武汉段)、武汉东湖、实验室自来水。玻璃广口瓶取水后在 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下贮存,用 1.0 mol/L 盐酸溶液调节水样 pH 至 3.0,过 0.45 μm 滤膜,备用。

1.4 试验方法

将 5 mL, pH=3、质量浓度为 20 ng/mL 的甲基对硫磷溶液加入 10 mL 的锥形玻璃离心管中,采用进样器将 50 μL 萃取剂三氯乙烯(C_2HCl_3)和 1 000 μL 分散剂(甲醇)的混合液迅速注入水样。离心管中立刻出现雾化现象,并可保持较长时间。萃取一定时间后,采用进样器将 800 μL 乙腈(作为去乳化剂)快速注入水样。混浊的分散体系很快澄清,并以较大液滴沉积在离心管底部。以 10 μL 微型进样器吸取 5 μL 沉积相注入高效液相色谱仪分析。

2 结果与分析

2.1 萃取条件优化

1) 萃取剂的选择。选择适当的萃取剂是分散液-液微萃取的关键。一般分散液-液微萃取溶剂必须满足以下条件: 密度比水大、萃取率高、难溶于水、好的色谱行为。本试验选择氯苯(PhCl)、 CCl_4 、三氯乙烯(C_2HCl_3) 3 种萃取剂进行研究。由于各萃取剂在水中的溶解度不同,加入同样量的萃取剂后获得的析出相体积不同。为获得相同体积的析出相 30 μL , 分别选择 44.4、51.4、51.6 μL 的 PhCl、 CCl_4 、 C_2HCl_3 为萃取剂,考察它们对水样中甲基对硫磷的萃取率。从图 1 可知, C_2HCl_3 的萃取率最高。因此,选择 C_2HCl_3 作为萃取剂。

2) 分散剂的选择。分散剂的选择是影响 DLLME 萃取性能的一个重要因素。要求分散剂不仅在萃取溶剂中有良好的溶解性而且能与水互溶,这样可以使萃取溶剂以极微小的液滴存在于水相中,使混合液成为一个高度分散的萃取剂/分散剂/水乳浊液体系,增大萃取剂与水相的接触面积,从而加快

传质速度、提高萃取效率。对甲醇、乙腈和丙酮作为分散剂的作用效果进行考察(图 2)。结果表明,选择甲醇作为分散剂,比乙腈、丙酮具有更高的萃取率。

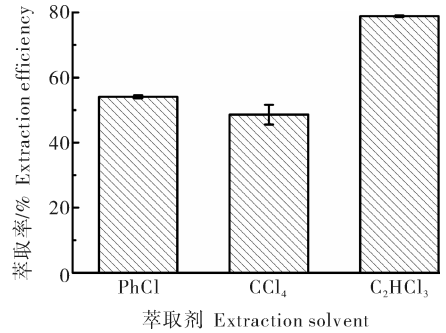


图 1 不同萃取剂对萃取率的影响 ($n=3$)

Fig. 1 Effect of extraction solvent on extraction efficiency

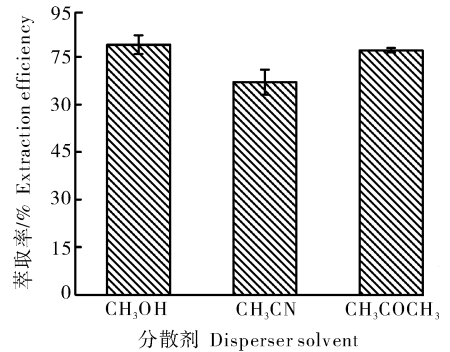


图 2 分散剂类型对萃取率的影响 ($n=3$)

Fig. 2 Effect of disperser solvent on extraction efficiency

3) 去乳化剂的选择。通过引入化学去乳化剂的方法来达到分离有机相的目的。这种化学去乳化剂应具有较小的表面张力和较大的表面活性,且不易形成强界面膜^[7]。试验对甲醇、乙腈和丙酮作为去乳化剂的作用进行考察。结果表明,对于 5 mL 水样,需分别使用 2 mL 甲醇或 1 mL 丙酮,才可有效终止乳化现象;而乙腈作为去乳化剂时,仅需 0.8 mL 即可破坏 C_2HCl_3 /甲醇/水乳化体系,促使萃取剂快速分相析出。与甲醇和丙酮比,乙腈析出相体积最大,萃取率最高,使用量较小。因此,选择乙腈作为去乳化剂。

4) 萃取剂、分散剂、去乳化剂体积的优化。萃取剂、分散剂、去乳化剂的体积均影响析出相体积的大小。为考察三者体积对萃取率的协同影响作用,本试验设计了三因素三水平正交试验(表 1),进行极差(R)分析(表 2),选出适宜的条件,并对正交试验的结果进行数据分析(表 3)。

表1 正交试验因素水平

Table 1 Factor levels of orthogonal test μL

因素 Factor level	萃取剂体积 Extraction solvent volume	分散剂体积 Disperser solvent volume	去乳化剂体积 De-emulsifier solvent volume
1	40	800	400
2	50	1 000	600
3	60	1 200	800

表2 正交试验结果¹⁾

Table 2 Results of orthogonal test

编号 Test No.	萃取剂体积/ μL Extraction solvent volume	分散剂体积/ μL Disperser solvent volume	去乳化剂体积/ μL De-emulsifier solvent volume	EE \pm SD/%
1	1	1	1	30.19 \pm 0.61
2	1	2	2	42.88 \pm 1.36
3	1	3	3	29.86 \pm 0.69
4	2	1	2	65.03 \pm 2.42
5	2	2	3	78.84 \pm 2.93
6	2	3	1	34.89 \pm 0.28
7	3	1	3	61.20 \pm 1.03
8	3	2	1	51.03 \pm 2.00
9	3	3	2	55.29 \pm 1.29

1)EE:萃取率 Extraction efficiency; SD:标准差 Standard deviation;下同 The same as below.

表3 萃取剂、分散剂和去乳化剂体积对萃取率的影响

Table 3 Effect of extraction solvent volume, disperser solvent volume and de-emulsifier solvent volume on extraction efficiency

萃取剂体积/ μL Extraction solvent volume	EE/%	分散剂体积/ μL Disperser solvent volume	EE/%	去乳化剂体积/ μL De-emulsifier solvent volume	EE/%
40	34.31	800	52.14	400	38.70
50	59.59	1 000	57.58	600	54.40
60	55.84	1 200	40.01	800	56.63
R	21.53	—	17.57	—	17.93

6)萃取时间和离子强度的影响。试验考察了萃取时间对萃取率的影响。结果表明,在所考察的时间范围内(1.0~30.0 min),萃取时间对萃取率的影响不明显。因此,选择萃取1.0 min后,直接注入去乳化剂。随着去乳化剂的加入,两相很快分离(约30 s),析出相体积约为30 μL ,与离心所得析出相体积接近。NaCl的加入可以调节水相中的离子强度,进而可能改善分析物在水相和有机相中的分配比。考察NaCl质量浓度在0~5%时对萃取率的影响。结果表明,在所考察的NaCl质量浓度范围内,甲基对硫磷萃取率没有明显提高。溶剂去乳化-分散液-液微萃取(SD-DLLME)的最终优化条件为:萃取剂,50 μL 三氯乙烯;分散剂,1 000 μL 甲醇;去乳化剂,800 μL 乙腈;萃取时间,1 min;水相pH=3。

2.2 方法性能评价

1)方法的线性范围、检出限与相对标准偏差。用峰面积定量法制定工作曲线,以1~40 ng/mL 甲基

通过比较极差大小发现,在试验范围内,萃取剂、分散剂、去乳化剂三者体积对萃取率均有较大影响,其中萃取剂体积的影响最大。萃取率均随着萃取剂与分散剂体积的增大先增大后减小,二者的优化值分别为50、1 000 μL 。但在考察去乳化剂体积对萃取率的影响时未找到最佳值。故进行追加试验,分别将去乳化剂的体积设为400、500、600、800、1 000 μL 。结果表明,当去乳化剂加入量为800 μL 时,萃取率最高。因此,萃取剂、分散剂、去乳化剂体积分别选择为50、1 000、800 μL 。

5)水相pH值的影响。甲基对硫磷在强碱性条件下可发生水解,故本试验考察了1~8范围内的pH值对萃取率的影响。结果表明,在所考察范围内,水相pH值对甲基对硫磷的萃取率影响不明显。试验还发现,当pH值增大至中性弱碱性条件时,乳化萃取体系稳定性增加,不易被乙腈破乳化分相,不利于后续试验操作。当pH值较小时,乙腈的破乳化效果较好,并且此条件下甲基对硫磷一般以中性分子存在,且较稳定,容易由水相萃取迁移至有机相,有利于提高萃取率。因而,选择pH=3进行后续试验。

对硫磷标准溶液经SD-DLLME处理后,取5 μL 析出相进行HPLC测定,获得工作曲线 $A=7.7457C+5.1709$ (C, ng/mL; A, mAu),线性相关系数 $R^2=0.9998$ 。本方法对甲基对硫磷的检出限为0.03 ng/mL(S/N=3),相对标准偏差(RSD)为3.3%(C=10 ng/mL, n=5)。

2)方法比较。将所建立的SD-DLLME与单滴微萃取(SDME)、固相微萃取(SPME)及传统DLLME应用于甲基对硫磷分析的性能进行比较(表4)。从表4可以看出, DLLME具有萃取时间短的显著优势,而SD-DLLME无需离心步骤,进一步缩短了分析时间,简化了操作步骤,提高了样品处理速度。本方法的富集倍数低于文献[11]。本文与文献[11]中的水样体积均为5 mL,但是本方法采用了较大体积的萃取剂(析出相体积约30 μL)以适应HPLC分析,而后的析出相体积约为5 μL (GC-SPD测定)。

表 4 本方法与其他测定甲基对硫磷的微萃取技术的比较¹⁾

Table 4 Comparison of microextraction techniques for determination of methyl parathion

方法 Methods	萃取时间/min Extraction time	离心时间/min Centrifugation time	富集倍数 Enrichment factor	检出限/(ng/mL) LOD	线性范围/(ng/mL) LR	精密度/% RSD	文献 References
SDME	15.0	—	—	0.057	0.5~100	10.0	[8]
SPME	45.0	—	—	0.02	0.1~10	7.0	[9]
SPME	60.0	—	—	1.5	10~1 000	3.3	[10]
DLLME	3.0	2.0	789	0.005	0.010~100	2.4	[11]
SD-DLLME	1.0	—	114	0.03	1~40	1.9	本研究 This study

1) LOD: 检出限 Limit of detection; LR: 线性范围 Linear range; RSD: 精密度 Relative standard deviation; SDME: 单滴微萃取 Single-drop microextraction; SPME: 固相微萃取 Solid-phase microextraction; DLLME: 分散液-液微萃取 Dispersive liquid-liquid microextraction; SD-DLLME: 溶剂去乳化分散液-液微萃取 Solvent demulsification dispersive liquid-liquid microextraction.

2.3 实际水样分析

对长江水(武汉段)、武汉市东湖水和自来水水样进行测定,均未检出甲基对硫磷。进行加标回收实验,结果见表 5。该方法测定实际水样中甲基对

硫磷的回收率在 73.9%~84.8%,实际样品分析的精密度(RSD)在 5%以内($n=5$),说明本法可用于实际样品分析。图 3-A、B 分别为长江水中甲基对硫磷加标(10 $\mu\text{g/L}$)后和加标前的典型色谱图。

表 5 实际水样测定及加标回收实验

Table 5 Analytical results of methyl parathion in natural water samples

加标值/ (ng/mL) Added	长江水 Yangtze River water			东湖水 East Lake water			自来水 Tap water		
	测定值/ (ng/mL) Found	回收率/% Recovery	精密度/% RSD	测定值/ (ng/mL) Found	回收率/% Recovery	精密度/% RSD	测定值/ (ng/mL) Found	回收率/% Recovery	精密度/% RSD
0	—	—	—	—	—	—	—	—	—
10	7.98	79.8	4.3	7.96	79.6	2.9	8.47	84.7	3.3
20	15.47	77.3	1.8	15.67	78.3	1.9	16.95	84.8	2.0
40	29.54	73.9	2.7	31.61	84.3	2.3	33.71	84.3	2.4

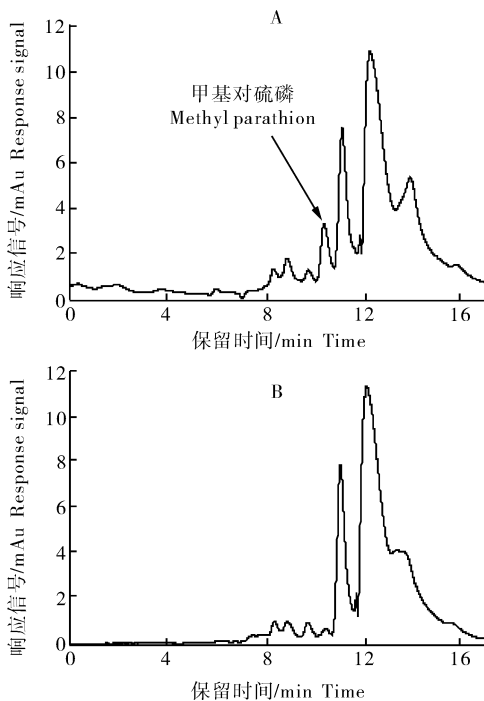


图 3 长江水样品加标 10 $\mu\text{g/L}$ 后的色谱图(A)及加标前的色谱图(B)

Fig. 3 Typical chromatograms of Yangtze River water sample and spiked with 10 $\mu\text{g/L}$ methyl parathion

3 讨论

本研究建立了基于重质萃取剂的溶剂去乳化分散液-液微萃取(SD-DLLME)-高效液相色谱测定水样中甲基对硫磷的新方法。不同于传统分散液-液微萃取技术,本方法在将萃取剂和分散剂的混合液快速注入水样,获得雾化体系并萃取后,向该雾化体系中直接注入乙腈作为去乳化剂实现分相,使萃取剂析出,避免了离心步骤,使操作更为简便、快速,促进分相。在优化条件下,本文方法的检出限为 0.03 ng/mL,相对标准偏差为 3.3% ($C=10$ ng/mL, $n=5$)。对实际水样测定的加标回收率在 73.9%~84.8%范围。本方法具有操作简单、检测快速等优点。值得提出的是,由于不需要离心步骤,SD-DLLME 有潜力应用于野外环境水样原地样品前处理,提高分析效率。

参 考 文 献

- [1] REZAEI M, ASSADI Y, MILANI H M R, et al. Determination of organic compounds in water using dispersive liquid-liquid microextraction[J]. J Chromatogr A, 2006, 1116(1/2): 1-9.

- [2] SOBHI H R, KASHTIARAY A, FARAHANI H, et al. Quantitation of mononitrotoluenes in aquatic environment using dispersive liquid-liquid microextraction followed by gas chromatography-flame ionization detection[J]. *J Hazard Mater*, 2010, 175(1/2/3): 279-283.
- [3] XIONG J, HU B. Comparison of hollow fiber liquid phase microextraction and dispersive liquid-liquid microextraction for the determination of organosulfur pesticides in environmental and beverage samples by gas chromatography with flame photometric detection[J]. *J Chromatogr A*, 2008, 1193(1/2): 7-18.
- [4] CHEN H, CHEN R W, LI S Q. Low-density extraction solvent-based solvent terminated dispersive liquid-liquid microextraction combined with gas chromatography-tandem mass spectrometry for the determination of carbamate pesticides in water samples [J]. *J Chromatogr A*, 2010, 1217(8): 1244-1248.
- [5] ZACHARIS C K, TZANAVARAS P D, ROUBOS K, et al. Solvent-based de-emulsification dispersive liquid-liquid microextraction combined with gas chromatography-mass spectrometry for determination of trace organochlorine pesticides in environmental water samples [J]. *J Chromatogr A*, 2010, 1217(38): 5896-5900.
- [6] GUO L, LEE H K. Ionic liquid based three-phase liquid-liquid-liquid solvent bar microextraction for the determination of phenols in seawater samples [J]. *J Chromatogr A*, 2010, 1217(28): 4299-4306.
- [7] 陈瑞文. 新型微萃取技术在农药残留前处理中的应用 [D]. 武汉: 华中农业大学理学院, 2009.
- [8] LAMBROPOULOU D A, PSILLAKIS E, ALBANIS T A, et al. Single-drop microextraction for the analysis of organophosphorus insecticides in water [J]. *Anal Chim Acta*, 2004, 516(1/2): 205-211.
- [9] LAMBROPOULOU D, SAKELLARIDES T, ALBANIS T. Determination of organophosphorus insecticides in natural waters using SPE-disks and SPME followed by GC/FTD and GC/MS [J]. *Fresen J Anal Chem*, 2000, 368(6): 616-623.
- [10] 王一龙, 曾昭睿, 杨敏, 等. 固相微萃取联用气相色谱测定有机磷农药 [J]. *武汉理工大学学报*, 2005, 27(10): 37-39.
- [11] BERIJANI S, ASSADI Y, ANBIA M, et al. Dispersive liquid-liquid microextraction combined with gas chromatography-flame photometric detection: very simple, rapid and sensitive method for the determination of organophosphorus pesticides in water [J]. *J Chromatogr A*, 2006, 1123(1): 1-9.

Solvent demulsification dispersive liquid-liquid microextraction combined with high performance liquid chromatography for determination of methyl parathion in water samples

ZHU Ben-qiong CHEN Hao LI Sheng-qing

College of Sciences, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China

Abstract A new method of solvent demulsification dispersive liquid-liquid microextraction (SD-DLLME) was developed for the determination of methyl parathion in the water samples by high performance liquid chromatography (HPLC). In the extraction procedure, a mixture of extraction solvent (trichloroethylene) and dispersive solvent (methanol) was injected into the aqueous sample solution to form an emulsion. In contrast with the conventional DLLME methods, which usually obtained the phase separation through centrifugation, a demulsification solvent (acetonitrile) was injected into the sample tube to break up the emulsion. The dispersed system turned clear quickly. The supernatant (trichloroethylene) was collected and analyzed by HPLC. No centrifugation was required in this procedure. Factors affecting the extraction efficiency such as the type and volume of dispersive solvent, extraction solvent and de-emulsifier were investigated in detail. Under the optimized conditions, the proposed method provided a good linearity in the range of 1-40 ng/mL ($R^2 = 0.9998$). The detection limit ($S/N = 3$) was 0.03 ng/mL. The relative standard deviations (RSDs) for the determination of 10 ng/mL methyl parathion was 3.3% ($n=5$). The proposed method is fast, efficient, convenient and can be successfully applied to the extraction of methyl parathion in natural water samples.

Key words solvent demulsification; dispersive liquid-liquid microextraction; methyl parathion; water sample; high performance liquid chromatography

(责任编辑: 陆文昌)