

崔瑞霞, 向孝哲, 孙鑫, 等. ACMO-co-DVB-co-NVP@MCM-41的制备及其在豇豆农药固相微萃取中的应用[J]. 华中农业大学学报, 2022, 41(5): 257-265. DOI: 10.13300/j.cnki.hnlkxb.2022.05.031

ACMO-co-DVB-co-NVP@MCM-41的制备 及其在豇豆农药固相微萃取中的应用

崔瑞霞, 向孝哲, 孙鑫, 张小帆, 李秀娟

华中农业大学食品科学技术学院/环境食品学教育部重点实验室/
果蔬加工与品质调控湖北省重点实验室, 武汉 430070

摘要 为满足豇豆中极性农药的检测需求, 在MCM-41介孔硅表面聚合二乙烯基苯(DVB)、N-乙烯基吡咯烷酮(NVP)和4-丙烯酰吗啉(ACMO), 得到ACMO-co-DVB-co-NVP@MCM-41材料; 采用扫描电子显微镜、傅立叶变换红外光谱仪、热重分析仪、N₂-物理吸附脱附等手段对材料进行了表征; 以该材料制得固相微萃取萃取头, 采用直接固相微萃取与气相色谱-氮磷检测器联用, 建立了豇豆(*Vigna unguiculata* (L.) Walp.)中灭多威、克百威和灭蝇胺3种极性农药的检测方法。结果显示: 在优化的条件下, 3种农药的线性关系良好, 决定系数均大于0.99, 检出限为1.71~18.79 μg/kg, 定量限为5.71~62.63 μg/kg。3种农药的加标回收率为84.4%~116.1%, 相对标准偏差为2.2%~7.5%。结果表明, 该方法具有较好的灵敏度、准确性和可靠性, 可以满足国家规定豇豆中农药的最大残留限量检测。

关键词 亲水亲脂平衡颗粒; 4-丙烯酰吗啉; 固相微萃取; 农药残留; 豇豆; 检测方法

中图分类号 O657.3; TS207.5⁺3 **文献标识码** A **文章编号** 1000-2421(2022)05-0257-09

豇豆(*Vigna unguiculata* (L.) Walp.)含有丰富的高品质植物蛋白、膳食纤维、维生素、矿物质等多种营养物质^[1], 深受消费者喜爱。豇豆是一种花果同期的作物, 在生长过程中极易受到杂草、昆虫和病毒的危害, 为了提高品质和产量, 不得不使用农药。若农药使用不当, 会导致豇豆中农药残留甚至含量超标, 对人体造成危害。由于农药的种类多样, 相对分子质量、分子结构和极性均差异较大, 对果蔬农药残留检测造成极大阻碍。固相微萃取(solid-phase microextraction, SPME)是目前常用的果蔬农药残留检测的前处理技术^[2], 具有操作简单、无溶剂、快速、灵敏等优点。但目前用于农药残留检测的SPME涂层大多对非极性、弱极性和中极性农药的萃取效果较好, 对于强极性农药, 涂层的萃取能力还远远不够。

亲水亲脂平衡(hydrophilic-lipophilic balance, HLB)颗粒是一种具有高表面积特征的介孔聚合物, 是由二乙烯基苯(divinylbenzene, DVB)和N-乙烯基

吡咯烷酮(N-vinylpyrrolidone, NVP)聚合而成, 其中DVB作为疏水交联单体可以形成具有高内表面积的骨架吸附非极性化合物, NVP作为亲水单体可以增强与极性分析物的相互作用^[3]。HLB颗粒的亲水亲脂特性, 使其作为一种新型吸附剂被广泛使用, 越来越多的研究也通过将HLB颗粒粘合在SPME萃取头表面, 用于从基质中同时萃取非极性和极性化合物, 从而实现多组分的测定^[4]。研究表明, 增大聚合物DVB-co-NVP中NVP的比例可以增强聚合物对极性物质的吸附能力^[5], 为了进一步增加HLB颗粒的极性, 有必要引入极性更强的功能单体。笔者所在实验室前期工作也表明, 引入甲基丙烯酸可以增加HLB材料对极性物质的萃取效果^[6]。

MCM-41是一类新型介孔硅材料, 具有较强的热稳定性、较大的比表面积(700~1 500 m²/g)、六方单维蜂窝状的孔道结构、均一且可调的孔径(1.5~20 nm)和大孔隙(>0.6 cm³/g)等特点^[7], 常被作为吸附

收稿日期: 2022-06-24

基金项目: 海南省科技厅重点研发计划项目(ZDYF2021XDNY304); 中央高校基本科研业务费专项(2662020SPPY015); 湖北省农业科技创新中心项目(2019-620-000-001-31)

崔瑞霞, E-mail: 2678598308@qq.com.

通信作者: 李秀娟, E-mail: lixiujuan@mail.hzau.edu.cn.

剂使用^[8]。因此,推测在使用极性单体与DVB-co-NVP聚合的同时引入MCM-41介孔硅可能会在增强聚合物极性的同时增大聚合物的比表面积,从而增强对极性和非极性目标物的同时萃取能力。

灭多威、克百威和灭蝇胺在豇豆农药残留检测中经常出现检出或超标现象^[9-10]。灭蝇胺($\log P=-0.04$)和灭多威($\log P=0.60$)的极性较强,使用SPME方法检测的文献很少。因此,本研究以DVB、NVP和4-丙烯酰吗啉(ACMO)为功能单体,在MCM-41介孔硅微球表面聚合,得到ACMO-co-DVB-co-NVP@MCM-41新材料;将该材料作为SPME涂层材料,制备萃取头,利用直接固相微萃取法(direct immersion-SPME, DI-SPME)结合气相色谱-氮磷检测器(gas chromatography-nitrogen phosphorus detector, GC-NPD)建立豇豆中3种农药残留的分析方法,以满足豇豆中常见极性农药的检测需求,旨在为豇豆中多农药残留的准确跟踪定量分析提供技术支持。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

豇豆购买于湖北省武汉市洪山区狮子山街道农贸市场。甲醇、无水乙醇、甲苯、乙腈、无水硫酸钠均为分析纯,购自国药集团化学试剂有限公司;商用聚二甲基硅氧烷(PDMS)胶购自美国道康宁公司;DVB为分析纯,购自上海阿拉丁生化科技股份有限公司;N-VP、4-丙烯酰吗啉(ACMO)均为分析纯,购自上海麦克林生化科技有限公司;偶氮二异丁腈[2, 2'-azobis(2-methylpropionitrile), AIBN]购自天津市光复精细化工研究所;waters Oasis HLB固相萃取小柱(3cc/60 mg, 30 μm)购自杭州倍嘉仪器仪表商行。灭多威(methomyl, 99.0%)、克百威(carbofuran, 98.6%)、灭蝇胺(cyromazine, 98.1%)购自上海农药所。试验用水为超纯水。

1.2 仪器与设备

SP-7820型气相色谱仪(配置氮磷检测器, NPD), 山东鲁南瑞虹化工有限公司;N2000色谱数据工作站, 浙江大学智达信息工程有限公司;OV-1701毛细管柱(30 m \times 0.32 mm \times 0.33 μm), 兰州中科安泰分析科技有限公司;CT-1 A型氮氢空气发生器, 武汉科林普丰仪器有限公司;KQ-300DE型数控超声波清洗器, 昆山市超声仪器有限公司;DF-101S

型集热式恒温加热磁力搅拌器, 武汉德力祥仪器设备有限公司;真空干燥箱, 上海一恒科学仪器有限公司;SU-8010型场发射扫描电子显微镜, 天美科学仪器有限公司;IS50型傅立叶红外光谱仪, 苏州奥普斯等离子体科技有限公司;TG209C型热分析仪, 德国耐驰仪器制造有限公司;ASAP 2460型比表面与孔隙度分析仪, 中国Agilent Technologies公司。商用聚丙烯酸酯萃取头(PA, 85 μm), 美国Supelco公司。实验室自制Oasis HLB萃取头(85 μm)参考文献[6]制备。不锈钢丝(直径150 μm), 深圳宝芳金属材料店。

气相色谱条件。以高纯氮气为载气, 柱头压0.055 MPa, 空气0.035 MPa, 氢气0.030 MPa, 尾气0.045 MPa, 不分流。铂丝电流2.29 A。柱炉程序升温: 初始温度160 $^{\circ}\text{C}$, 以2 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升温至170 $^{\circ}\text{C}$, 以10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升温至280 $^{\circ}\text{C}$, 保持5 min。进样口温度280 $^{\circ}\text{C}$, NPD检测器温度290 $^{\circ}\text{C}$ 。

1.3 涂层材料的制备

1) MCM-41微球的制备。采用水热法合成MCM-41微球, 具体步骤参考文献[11]。

2) ACMO-co-DVB-co-NVP@MCM-41材料的制备。向三口烧瓶中加入45 mL乙腈和15 mL甲苯(V:V=3:1)混合并用氮气吹扫30 min。将DVB、N-VP和ACMO按物质的量为3:1:0.83的比例加入到混合溶剂中, 再加入15.00 mg AIBN作为引发剂同时加入0.60 g MCM-41微球。置于70 $^{\circ}\text{C}$ 油浴锅中通过热引发进行自由基聚合反应, 并在600 r/min的条件下持续搅拌反应24 h。反应结束后抽滤, 收集反应混合物。将该混合物用大量蒸馏水和乙醇洗涤后, 在80 $^{\circ}\text{C}$ 下真空干燥24 h, 即得ACMO-co-DVB-co-NVP@MCM-41材料。

1.4 萃取头的制备

不锈钢丝处理具体步骤参考文献[12]。使用商用PDMS胶作为粘合剂, 采用直接粘合法^[6]制备ACMO-co-DVB-co-NVP(85 μm)、MCM-41(85 μm)和ACMO-co-DVB-co-NVP@MCM-41(85 μm)萃取头。将涂覆完成的萃取头置于干燥器中干燥12 h, 安装在SPME装置中, 首次使用前在氮气保护下于GC进样口老化2 h, 老化温度为280 $^{\circ}\text{C}$ 。

1.5 溶液的配制

用甲醇分别配制灭多威、克百威、灭蝇胺农药母液, 质量浓度为20.00 mg/L, 在-18 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存备

用。用甲醇稀释母液制得 1.00 mg/g 的混合标准溶液 1 用于不同萃取头萃取能力比较试验以及 10.00 mg/g 的混合标准溶液 2 用于萃取条件的优化试验。另外配制一系列浓度的混标用于线性范围和加标回收率测定。

1.6 SPME 操作

试验前分别采用单一的农药标准品和混合标准品对分析物进行定性;试验过程中通过直接进样混合标准品和水中 DI-SPME/GC-NPD 确认分析物以及检查仪器的稳定性。

1) 水中 DI-SPME 操作。取 10 μL 农药混标 1 加入装有 9 mL 超纯水的 10 mL 萃取瓶中,加入磁力搅拌子并封盖,将 SPME 装置的不锈钢管直接插入加标样品中,推出萃取头,在温度为 40 $^{\circ}\text{C}$ 、转速为 600 r/min 的条件下萃取 30 min,萃取完成后,将萃取头抽回不锈钢管内,用无尘纸小心拭去萃取头与钢管连接处的水滴,于 280 $^{\circ}\text{C}$ GC 进样口解吸 10 min。所有试验平行操作 3 次,结果取平均值。

2) 豇豆匀浆 DI-SPME 操作。按照豇豆:超纯水=1:1 的质量比例打浆后装入锥形瓶,按每 2 g 豇豆匀浆添加 10 μL 农药混标的比例加标,于摇床振荡 40 min 混匀,在 4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱中放置 12 h 后使用。取 10 g 豇豆匀浆于 10 mL 萃取瓶中,添加质量分数 12.5% 的无水 Na_2SO_4 ,加入磁力搅拌子并封盖,将 SPME 装置的不锈钢管直接插入加标样品中,推出萃取头,在温度为 90 $^{\circ}\text{C}$ 、转速为 1 200 r/min 的条件下萃取 60 min。解吸前的快速漂洗和解吸后的清洗能够有效去除萃取头表面吸附的杂质而不会造成分析物的明显损失^[13]。因此,萃取完成后,将萃取头于甲醇:超纯水($V:V=1:9$)中快速漂洗 5 s,用无尘纸将萃取头表面残留的溶剂拭干,随后在 280 $^{\circ}\text{C}$ 的 GC 进样口解吸 10 min,解吸后使用甲醇:丙酮($V:V=1:1$)混合溶剂清洗 1 min,使用无尘纸小心擦拭涂层表面,然后在 280 $^{\circ}\text{C}$ 下老化 5 min,即可进行下一次萃取。所有试验均重复 3 次,结果取平均值。

1.7 数据处理

所得数据采用 Excel 软件进行分析,采用 Origin 软件绘图。

2 结果与分析

2.1 材料的表征

1) 微观形貌。图 1 为 MCM-41 和 ACMO-co-

DVB-co-NVP@MCM-41 材料的扫描电镜图。从图 1 可以看出,MCM-41 材料呈椭球状或球状,其粒径在 0.4 μm 左右,该微球表面光滑,无明显团聚现象;ACMO-co-DVB-co-NVP@MCM-41 是一种球状材料,粒径也在 0.4 μm 左右,但其表面不光滑,有明显凸起,微粒之间存在一定的团聚现象,分散不均匀,且有不同粒径的颗粒存在,说明 MCM-41 微球表面修饰有 ACMO-co-DVB-co-NVP 聚合物,而且因为聚合物导致了微球团聚,这种团聚现象与文献[14]一致。

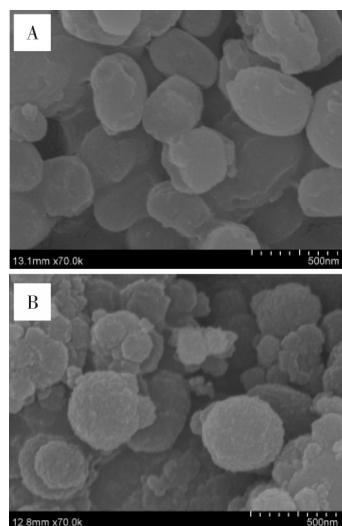


图 1 MCM-41 微球(A)和 ACMO-co-DVB-co-NVP@MCM-41 微球(B)的扫描电镜图

Fig.1 Scanning electron microscopy images of MCM-41 (A) and ACMO-co-DVB-co-NVP@MCM-41 (B) at 70 kx

2) 结构组成。图 2 为 MCM-41 和 ACMO-co-DVB-co-NVP@MCM-41 材料的红外光谱图。其中 468 cm^{-1} 、796 cm^{-1} 是 Si-O-Si 基团的弯曲振动峰和对称拉伸振动峰,955 cm^{-1} 为 Si-OH 的不对称拉伸振动峰,3 435 cm^{-1} 是 O-H 的伸缩振动峰^[15-16]。

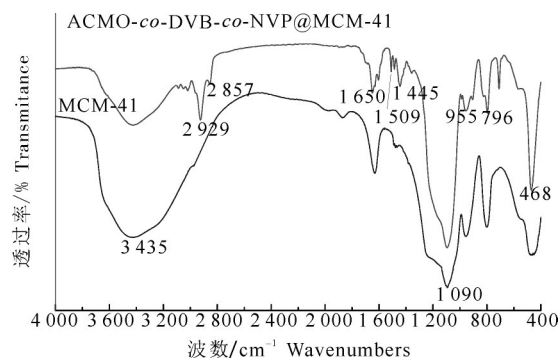


图 2 MCM-41 微球以及 ACMO-co-DVB-co-NVP@MCM-41 微球的红外光谱图

Fig.2 FT-IR spectra of MCM-41 microspheres and ACMO-co-DVB-co-NVP@MCM-41 microspheres

此外,由于Si—O—Si基团的不对称拉伸振动,在约 $1\ 090\text{ cm}^{-1}$ 处出现了1个强峰,该峰与聚合物上ACMO链中C—O—C基团的吸收带重叠^[17]。在ACMO-co-DVB-co-NVP@MCM-41材料的谱图中, $2\ 857\text{ cm}^{-1}$ 、 $2\ 929\text{ cm}^{-1}$ 处为共聚物中C—H的拉伸振动峰, $1\ 509\text{ cm}^{-1}$ 处为DVB芳环中C=C弯曲振动峰, $1\ 445\text{ cm}^{-1}$ 处为NVP链上C—N伸缩振动峰^[18-19], $1\ 650\text{ cm}^{-1}$ 附近为NVP和ACMO结构中羰基的特征峰。由此,我们认为ACMO-co-DVB-co-NVP@MCM-41材料成功聚合。

3)热稳定性。由图3可知,该材料在 $350\text{ }^{\circ}\text{C}$ 左右开始分解,可以满足GC分析检测的需求。

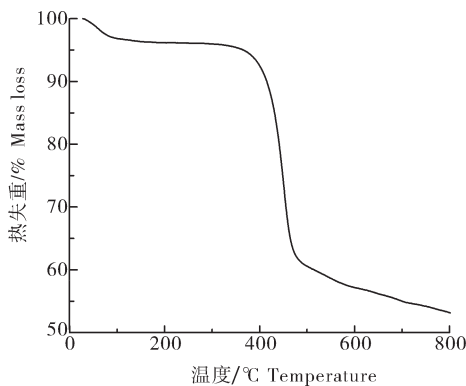


图3 ACMO-co-DVB-co-NVP@MCM-41微球的热重分析图

Fig.3 Thermogravimetric analysis image of ACMO-co-DVB-co-NVP@MCM-41 microspheres

4) N_2 -物理吸附脱附分析。由 N_2 -物理吸附脱附测得,ACMO-co-DVB-co-NVP@MCM-41材料的比表面积为 $605.26\text{ m}^2/\text{g}$,孔径为 2.58 nm 。

2.2 萃取能力比较

为评价ACMO-co-DVB-co-NVP@MCM-41萃取头的萃取能力,采用水中DI-SPME方法,选择自制Oasis HLB萃取头、ACMO-co-DVB-co-NVP萃取

头、MCM-41萃取头和商用PA萃取头与该萃取头进行比较。以自制ACMO-co-DVB-co-NVP@MCM-41萃取头对分析物的萃取峰面积为100%,另外4种萃取头的萃取峰面积进行相应计算(表1)。由表1可知,ACMO-co-DVB-co-NVP@MCM-41对3种农药的萃取效果比单独使用MCM-41和ACMO-co-DVB-co-NVP都好,表明两者的结合可以增大材料的吸附性能;与Oasis HLB相比,ACMO-co-DVB-co-NVP对灭蝇胺和克百威的萃取量增加,而对灭多威的萃取效果不好,说明ACMO可能增强对含有双键共轭体系化合物的萃取能力,而且对极性更强的灭蝇胺增强效果极为显著;PA萃取头是最适合萃取极性物质的商用涂层,对3种农药的萃取效果依然很好,但是没有ACMO-co-DVB-co-NVP@MCM-41萃取头好。

还比较了ACMO-co-DVB-co-NVP@MCM-41萃取头和自制Oasis HLB萃取头的萃取覆盖能力,选取不同极性的分析物包括乐果($\log P=1.32$)、避蚊胺($\log P=1.96$)、甲苯($\log P=2.68$)、邻苯二甲酸二乙酯($\log P=2.7$)、多效唑($\log P=2.99$)、对二甲苯($\log P=3.14$)、邻苯二甲酸二戊酯($\log P=5.89$)、邻苯二甲酸二(2-乙基己)酯($\log P=8.71$)等,结果表明ACMO-co-DVB-co-NVP@MCM-41萃取头对这些物质的萃取效果优于Oasis HLB萃取头,萃取量为Oasis HLB萃取头萃取量的1.12~1.57倍。由此可见,ACMO-co-DVB-co-NVP@MCM-41萃取头初步展现了宽的分析物覆盖能力和对极性物质的高萃取能力。

2.3 萃取条件优化

1)搅拌速度。从图4(DI-SPME条件:萃取时间,40 min;萃取温度, $40\text{ }^{\circ}\text{C}$;不加盐)可以看出,随着

表1 5种萃取头的峰面积比较

Table 1 Comparison of peak areas of the five fibers

分析物 Analytes	$\log P$	与ACMO-co-DVB-co-NVP@MCM-41萃取头的相对峰面积/% Relative peak areas to ACMO-co-DVB-co-NVP@MCM-41 fiber				
		ACMO-co-DVB-co-NVP@MCM-41	MCM-41	ACMO-co-DVB-co-NVP	PA	Oasis HLB
灭蝇胺 Cyromazine	-0.04	100.00	5.41	62.80	87.12	18.39
灭多威 Methomyl	0.60	100.00	6.36	47.61	51.56	71.81
克百威 Carbofuran	2.29	100.00	18.22	84.16	65.94	79.42

注: $\log P$:某物质在正辛烷(油)和水中的分配系数比值的对数值 The logarithm of the ratio between the distribution coefficient of a substance in n-octane (oil) and water.

搅拌速度的增加,3种农药的萃取峰面积整体上呈增大趋势,在搅拌速率为1 200 r/min时的萃取峰面积最大。可能是搅拌速度增加加快了分子的运动,使萃取头在相同时间内可以接触更多的目标物,从而增加萃取头对农药的萃取量。

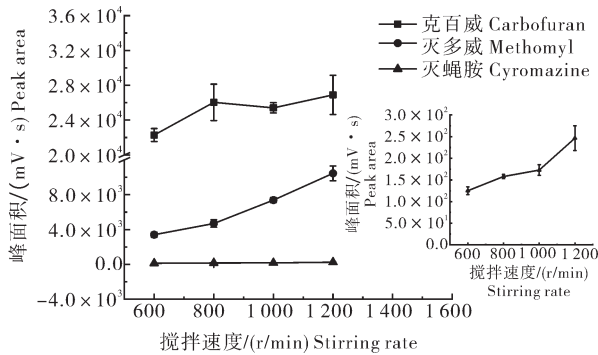


图4 搅拌速度对萃取量的影响

Fig.4 The effect of stirring rate on the extraction amounts

2) 萃取温度。由图5(DI-SPME条件:萃取时间,40 min;搅拌速度,1 200 r/min;不加盐)可知,随着温度的升高,3种农药的萃取量均呈先增加后减少的趋势,灭多威和灭蝇胺的萃取量在90℃时达到最大值,克百威的最佳萃取温度为80℃。可能是萃取温度升高加快了目标物的扩散速率,有利于提高萃取能力和缩短萃取时间;但温度太高会减小目标物在涂层与基质之间的分配系数,降低萃取头的萃取效果。综合考虑,后续试验选择90℃萃取。

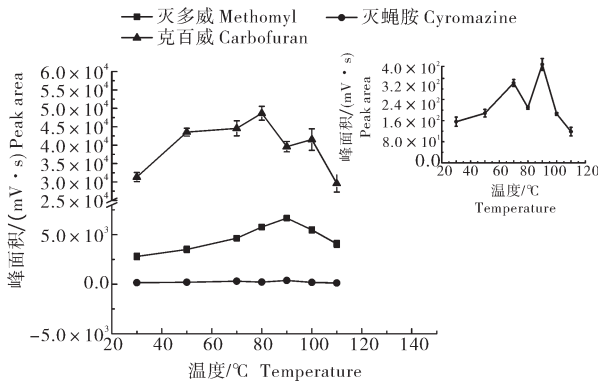


图5 萃取温度对萃取量的影响

Fig.5 The effect of extraction temperature on the extraction amounts

3) 萃取时间。考察了30~70 min内,萃取时间对基质中目标物萃取量的影响。从图6(DI-SPME条件:萃取温度,90℃;搅拌速度,1 200 r/min;不加盐)可以看出,在萃取时间为30~60 min内3种目标物萃取量逐渐增加;在60~70 min内,随着萃取时间的增加,目标物的萃取量逐渐减少,可能是萃取时间太长

导致前期被萃取头吸附的目标物又重新进入基质中,从而使萃取量减少。后续试验选择60 min作为最优萃取时间。

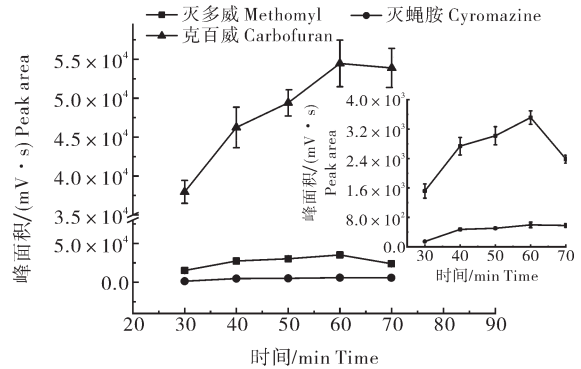


图6 萃取时间对萃取量的影响

Fig.6 The effect of extraction time on the extraction amounts

4) 离子强度。如图7(DI-SPME条件:萃取时间,60 min;萃取温度,90℃;搅拌速度,1 200 r/min)所示,随着Na₂SO₄的增大,灭多威和克百威的萃取量逐渐增加;灭蝇胺的萃取量呈先增加后降低的趋势,在Na₂SO₄为12.5%时达到最大。加盐除了会使分析物发生盐析作用外,盐离子与分析物之间还会发生静电相互作用,当盐析作用大于静电作用时,物质的溶解度降低,会使萃取量增大;当静电作用大于盐析作用时,会增大物质的溶解度,从而降低萃取量。为了提高灵敏度,选择添加质量分数为12.5%的无水Na₂SO₄进行后续试验。

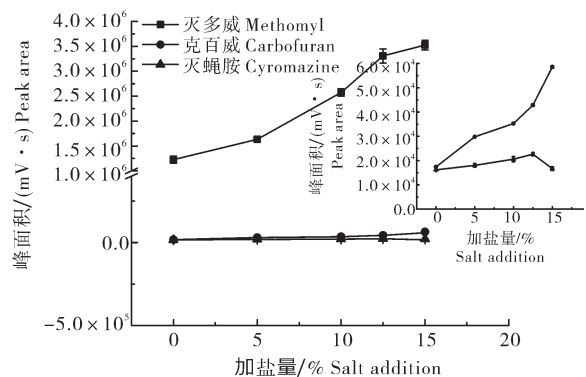


图7 加盐量对萃取量的影响

Fig.7 The effect of salt addition on the extraction amounts

2.4 方法的建立与评价

采用外标法定量,以甲醇配制不同质量浓度的系列农药标准溶液,在优化的条件下,以加标浓度为横坐标、峰面积平均值为纵坐标,分别制作3种农药

的定量标准曲线。如表2所示,3种农药在各自线性范围内的线性关系良好,决定系数均大于0.995 7,检出限(LOD)1.71~18.79 $\mu\text{g}/\text{kg}$,均低于豇豆中农药最大残留限量标准(GB 2763—2021),定量限(LOQ)为

5.71~62.63 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。通过加标回收率来验证方法的准确性,结果如表3所示,3种农药的加标回收率为84.4%~116.1%,相对标准偏差为2.2%~7.5%,说明该方法具有较好的准确性和精密度。

表2 3种农药的线性关系、检出限、定量限和相对标准偏差($n=5$)

Table 2 Linear ranges, limits of detection, limits of quantification and RSDs of 3 pesticides ($n=5$)

分析物 Analytes	线性范围/ ($\mu\text{g}/\text{g}$) Linear range	线性方程 Linear equation	决定系数 R^2	检出限/ ($\mu\text{g}/\text{kg}$) LOD	定量限/ ($\mu\text{g}/\text{kg}$) LOQ	相对标准 偏差/% RSD	最大残留限量/ ($\mu\text{g}/\text{kg}$) Maximum residue limit
灭多威 Methomyl	0.10~40.00	$y=888563x+1684.6$	0.999 1	15.39	51.30	5.0	200.00
克百威 Carbofuran	0.01~1.00	$y=4\times 10^7x-496.77$	0.995 7	1.71	5.71	2.5	20.00
灭蝇胺 Cyromazine	0.10~40.00	$y=598001x+1082.1$	0.998 1	18.79	62.63	2.7	500.00

注: y :峰面积; x :含量, mg/g ;LOD= $3\delta/S$, δ 为样品空白响应值的标准偏差, S 表示校正曲线的斜率;LOQ=LOD $\times 10/3$;加标浓度分别为灭多威,5.00 $\mu\text{g}/\text{g}$;克百威,1.00 $\mu\text{g}/\text{g}$;灭蝇胺,5.00 $\mu\text{g}/\text{g}$ 。Note: y : Peak area; x : Concentration, mg/g ; LOD= $3\delta/S$, δ : Standard deviation of blank sample response value, S : The slope of correction curve; LOQ=LOD $\times 10/3$; Spiked concentration: methomyl, 5.00 $\mu\text{g}/\text{g}$; carbofuran, 1.00 $\mu\text{g}/\text{g}$; cyromazine, 5.00 $\mu\text{g}/\text{g}$.

表3 3种农药在豇豆匀浆中的加标回收率和相对标准偏差($n=3$)

Table 3 Recoveries and RSDs of 3 pesticides in cowpea pulp ($n=3$)

分析物 Analytes	加标量/($\mu\text{g}/\text{g}$) Spiked concentration	回收率/% Recovery	相对标准偏差/% RSD
灭多威 Methomyl	0.10	116.1	3.9
	5.00	103.9	3.6
	40.00	101.0	2.2
克百威 Carbofuran	0.01	107.0	3.3
	0.10	101.6	3.0
	1.00	107.1	2.6
灭蝇胺 Cyromazine	0.10	103.3	7.5
	5.00	84.4	2.5
	40.00	99.8	5.2

2.5 实际样品分析

采用建立的DI-SPME/GC-NPD方法随机检测从农贸市场购买的豇豆中3种农药的含量。结果显示,该豇豆中灭多威、克百威和灭蝇胺均未检出。该萃取头性质稳定,在豇豆基质中使用60次以上萃取能力没有显著变化。图8为空白豇豆样品和加标豇豆样品的色谱图(出峰顺序和加标浓度为:1,灭多威,5.00 $\mu\text{g}/\text{g}$;2,克百威,0.10 $\mu\text{g}/\text{g}$;3,灭蝇胺,5.00 $\mu\text{g}/\text{g}$)。

将本研究所建立的分析方法与已报道的测定农药的一些研究方法进行比较。如表4所示,该方法的LOD低于分散固相萃取(dispersive solid-phase extraction, DSPE)、QuEChERS、快速极性农药萃取

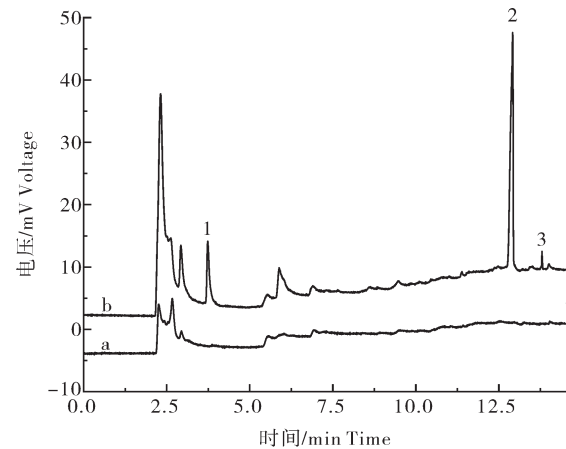


图8 DI-SPME/GC-NPD方法检测空白豇豆(a)和加标豇豆(b)中3种农药的色谱图

Fig.8 Chromatograms of DI-SPME/GC-NPD method for determination of 3 pesticides in blank cowpea pulp (a) and spiked cowpea pulp (b)

(quick polar pesticides extraction, QuPPE)等方法所测的LOD,且本试验前期无需复杂程序、无需大量溶剂,更加简便快捷,可以应用于豇豆中农药残留的检测。

3 讨论

本研究合成了ACMO-co-DVB-co-NVP@MCM-41新材料,使用直接粘合法制备了SPME涂层。该涂层性能稳定,在豇豆匀浆中使用60次后萃取能力无明显变化。通过不同萃取头萃取能力比较的结果表明,

表4 本方法与其他方法的对比
Table 4 Comparison of this method with other methods

方法 Methods	萃取材料 Extraction material	样品 Sample	分析物 Analytes	检出限/ ($\mu\text{g}/\text{kg}$) LOD	回收率/% Recovery	参考文献 References
DSPE/HPLC-PDA	聚苯胺改性沸石 Polyaniline-modified zeolite NaY	卷心菜, 草莓 Cabbage, strawberry	灭多威 Methomyl	30.00	64.0~88.0	[20]
QuEChERS/GC-MS	—	木瓜, 鳄梨 Papaya, avocado	克百威 Carbofuran	30.00~190.00	69.7~98.1	[21]
QuEChERS/LC-MS/MS	—	椰子 Coconut	克百威 Carbofuran	10.00	82.0~120.0	[22]
QuPPE/DART-HRMS	—	生菜, 芹菜 Lettuce, celery	灭蝇胺 Cyromazine	20.00	74.0~100.0	[23]
DI-SPME/GC-NPD	ACMO-co-DVB-co-NVP@MCM-41	豇豆 Cowpea	灭多威、克百威、 灭蝇胺 Methomyl, carbofuran, cyromazine	1.71~18.79	84.4~116.1	本研究 This study

注 Note: DSPE/HPLC-PDA: 分散固相萃取/高效液相色谱法结合光电二极管阵列 Dispersive solid-phase extraction/ high performance liquid chromatography coupled with photodiode array; QuPPE/DART-HRMS: 快速极性农药提取/实时高分辨率质谱直接分析 Quick polar pesticides extraction/direct analysis in real time-high resolution mass spectrometry.

该萃取头对极性不同的分析物具有较好的萃取覆盖能力,而且对极性物质的萃取能力比HLB涂层更强。可能原因是涂层中MCM-41的引入增加了材料的比表面积从而增大了萃取量,ACMO增强了涂层的极性从而增强了对极性物质的吸附能力。该涂层可以扩大SPME方法的应用范围,在多组分和非目标物分析方面有很好的应用前景。后期还需要增加更多的极性和结构不同的物质对其萃取性能进行评价。

本研究应用ACMO-co-DVB-co-NVP@MCM-41萃取头,采用DI-SPME法与GC-NPD联用,建立了豇豆中灭多威、克百威和灭蝇胺3种农药的检测方法。目前果蔬农药残留检测的前处理技术主要有固相微萃取、固相萃取、QuEChERS技术等。SPME的萃取原理是萃取头涂层对分析物的吸附作用。但由于萃取头材料性质的影响,限制了SPME技术在检测极性农药方面的应用。用于萃取弱极性和中等极性农药的涂层很多,但是能萃取灭蝇胺、灭多威等强极性农药的涂层很少。为了萃取这些强极性的农药,同时也能用于其他农药的分析,本研究制备了ACMO-co-DVB-co-NVP@MCM-41萃取头。本研究建立的方法应用所制备萃取头检测灭多威和灭蝇胺的检出限低于国家标准最大残留限量,可以满足豇豆样品分析检测的需要。克百威的极性较灭多威

和灭蝇胺弱,SPME方法在其检测方面应用较多,本研究建立的方法对克百威的检出限虽低于国家标准最大残留限量,但高于某些文献的检出限^[24],因而后续还可以对该方法进行改进。但与DSPE、QuEChERS、QuPPE等方法相比^[20-23],本方法具有试验前期无需复杂程序、较低的检出限、无需大量溶剂等特点,同时SPME装置小巧、便于携带,若进行原位/活体采样可以做到基本不干扰机体正常生长代谢,可以为豇豆中多农药残留的快速、准确跟踪定量分析提供新思路和新方法。

参考文献 References

- [1] ADJEI-FREMAH S, WORKU M, DE ERIVE M O, et al. Effect of microfluidization on microstructure, protein profile and physicochemical properties of whole cowpea flours[J/OL]. Innovative food science & emerging technologies, 2019, 57: 102207 [2022-06-24]. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2019.102207>.
- [2] CAI Y M, WANG J, ZOU Q, et al. In situ hydrothermal growth of metal-organic gels coating for efficient solid-phase microextraction of pesticide residues[J/OL]. Talanta open, 2021, 4: 100077 [2022-06-24]. <https://doi.org/10.1016/j.talo.2021.100077>.
- [3] MURAKAMI H, AOYANAGI T, MIKI Y, et al. Effects of hydrophilic monomers on sorptive properties of divinylbenzene-based reversed phase sorbents[J]. Talanta, 2018, 185: 427-432.
- [4] YU J, XU X B, MURTADA K, et al. Untargeted analysis of mi-

- crobal metabolites and unsaturated fatty acids in salmon via hydrophilic-lipophilic balanced solid-phase microextraction [J/OL]. Food chemistry, 2022, 380: 132219 [2022-06-24]. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.132219>.
- [5] KARKI I, LI P, VIK E C, et al. Absorption properties of monolithic poly (divinylbenzene-co-N-vinylpyrrolidone) over a wide range of monomer ratios [J/OL]. Reactive and functional polymers, 2021, 163: 104888 [2022-06-24]. <https://doi.org/10.1016/j.reactfunctpolym.2021.104888>.
- [6] 向孝哲. 环境有机污染物高效固相萃取涂层的制备及在茭白原位采样中的应用[D]. 武汉: 华中农业大学, 2021. XIANG X Z. Preparation of efficient solid phase microextraction coating of environmental organic pollutants and its application in situ sampling of water bamboo [D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2020 (in Chinese with English abstract).
- [7] SELVAM P, BHATIA S K, SONWANE C G. Recent advances in processing and characterization of periodic mesoporous MCM-41 silicate molecular sieves [J]. Industrial & engineering chemistry research, 2001, 40(15): 3237-3261.
- [8] COSTA J A S, DE JESUS R A, SANTOS D O, et al. Recent progresses in the adsorption of organic, inorganic, and gas compounds by MCM-41-based mesoporous materials [J/OL]. Microporous and mesoporous materials, 2020, 291: 109698 [2022-06-24]. <https://doi.org/10.1016/j.micromeso.2019.109698>.
- [9] 田丽, 王玮, 胡佳薇, 等. 2012—2018年陕西关中地区市售蔬菜中农药残留调查[J]. 卫生研究, 2019, 48(6): 953-956. TIAN L, WANG W, HU J W, et al. Investigation of pesticides residues in vegetables in the central Shaanxi area, 2012-2018 [J]. Journal of hygiene research, 2019, 48(6): 953-956 (in Chinese with English abstract).
- [10] 郭蓉, 程国霞, 王彩霞, 等. 陕西省蔬菜、水果、食用菌和袋泡茶农药残留调查[J]. 预防医学, 2017, 29(11): 1158-1159, 1162. GUO R, CHENG G X, WANG C X, et al. Investigation of pesticide residues in vegetables, fruits, edible fungi and tea bags in Shaanxi province [J]. Preventive medicine, 2017, 29(11): 1158-1159, 1162 (in Chinese).
- [11] CAI Q, LUO Z S, PANG W Q, et al. Dilute solution routes to various controllable morphologies of MCM-41 silica with a basic medium [J]. Chemistry of materials, 2001, 13(2): 258-263.
- [12] 高远莉. 分子印迹固相萃取涂层的制备、评价及在农残检测中的应用[D]. 武汉: 华中农业大学, 2013. GAO Y L. Preparation and evaluation of molecularly imprinted polymers for solid phase microextraction and their application to the analysis of pesticide residues [D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2013 (in Chinese with English abstract).
- [13] ZHANG X W, CHU Y J, LI Y H, et al. Matrix compatibility of typical Sol-gel solid-phase microextraction coatings in undiluted plasma and whole blood for the analysis of phthalic acid esters [J]. Analytical and bioanalytical chemistry, 2022, 414(7): 2493-2503.
- [14] SUHAIL F, BATOOL M, DIN M I, et al. Facile synthesis of hetaryl-modified MCM-41 and targeted removal of Pb(II) ions for water purification [J]. Journal of porous materials, 2020, 27(5): 1491-1504.
- [15] AHSANI M, YEGANI R. Study on the fouling behavior of silica nanocomposite modified polypropylene membrane in purification of collagen protein [J]. Chemical engineering research and design, 2015, 102: 261-273.
- [16] SAINI B, SINHA M K, DASH S K. Mitigation of HA, BSA and oil/water emulsion fouling of PVDF ultrafiltration membranes by SiO₂-g-PEGMA nanoparticles [J/OL]. Journal of water process engineering, 2019, 30: 100603 [2022-06-24]. <https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2018.03.018>.
- [17] JIN L M, YU S L, SHI W X, et al. Synthesis of a novel composite nanofiltration membrane incorporated SiO₂ nanoparticles for oily wastewater desalination [J]. Polymer, 2012, 53(23): 5295-5303.
- [18] SINHA M K, PURKAIT M K. Preparation and characterization of novel pegylated hydrophilic pH responsive polysulfone ultrafiltration membrane [J]. Journal of membrane science, 2014, 464: 20-32.
- [19] LIU Z Z, QI P P, WANG J, et al. Development, validation, comparison, and implementation of a highly efficient and effective method using magnetic solid-phase extraction with hydrophilic-lipophilic-balanced materials for LC-MS/MS analysis of pesticides in seawater [J/OL]. Science of the total environment, 2020, 708: 135221 [2022-06-24]. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.135221>.
- [20] ARNNOK P, PATDHANAGUL N, BURAKHAM R. Dispersive solid-phase extraction using polyaniline-modified zeolite NaY as a new sorbent for multiresidue analysis of pesticides in food and environmental samples [J]. Talanta, 2017, 164: 651-661.
- [21] PANO-FARIAS N S, CEBALLOS-MAGAÑA S G, MUÑIZ-VALENCIA R, et al. Validation and assessment of matrix effect and uncertainty of a gas chromatography coupled to mass spectrometry method for pesticides in papaya and avocado samples [J]. Journal of food and drug analysis, 2017, 25(3): 501-509.
- [22] FERREIRA J A, FERREIRA J M S, TALAMINI V, et al. Determination of pesticides in coconut (*Cocos nucifera* Linn.) water and pulp using modified QuEChERS and LC-MS/MS [J]. Food chemistry, 2016, 213: 616-624.
- [23] LARA F J, CHAN D, DICKINSON M, et al. Evaluation of direct analysis in real time for the determination of highly polar pesticides in lettuce and celery using modified Quick Polar Pesticides Extraction method [J]. Journal of chromatography A, 2017, 1496: 37-44.
- [24] WANG R Y, SUN X W, WANG X, et al. Spherical conjugated microporous polymers for solid phase microextraction of carbamate pesticides from water samples [J/OL]. Journal of chromatography A, 2020, 1626: 461360 [2022-06-24]. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2020.461360>.

Preparation of ACMO-co-DVB-co-NVP@MCM-41 and its application in solid-phase microextraction of pesticides in cowpea

CUI Ruixia, XIANG Xiaozhe, SUN Xin, ZHANG Xiaofan, LI Xiujuan

*College of Food Science and Technology, Huazhong Agricultural University/
Key Laboratory of Environment Correlative Dietology,
Ministry of Education/Hubei Key Laboratory of Fruit & Vegetable Processing &
Quality Control, Wuhan 430070, China*

Abstract ACMO-co-DVB-co-NVP@MCM-41 material was obtained by polymerizing divinylbenzene (DVB), N-vinylpyrrolidone (NVP) and 4-acryloylmorpholine (ACMO) on MCM-41 mesoporous microspheres to meet the requirements of detecting polar pesticides in cowpea. The material was characterized with scanning electron microscope, Fourier transform infrared spectrometer, thermogravimetric analyzer and N₂ adsorption-desorption. Solid-phase microextraction (SPME) fibers were prepared from this material. A method for determining methomyl, carbofuran and cyromazine in cowpea was established by direct immersion-SPME combined with gas chromatography-nitrogen phosphorus detector. Under the optimized extraction conditions, the linear relationship of the three pesticides was good, the coefficients of determination were all greater than 0.99, with the detection limits of 1.71-18.79 $\mu\text{g}/\text{kg}$ and the quantification limits of 5.71-62.63 $\mu\text{g}/\text{kg}$. The recoveries of 3 pesticides ranged from 84.4% to 116.1%, and the relative standard deviations ranged from 2.2%-7.5%. It is indicated that the method established has good sensitivity, accuracy and reliability, and can satisfy the maximum residue limit (MRL) of pesticide in cowpea. Compared with the popular coating made from hydrophilic-lipophilic balance particles, it has a large extraction capacity and a stronger extraction performance for strong polar substances, which will have a good application prospect in the extraction of non-targeted analytes.

Keywords hydrophilic-lipophilic balance particles; 4-acryloylmorpholine; solid-phase microextraction; pesticide residues; cowpea; detection method

(责任编辑:陆文昌)