

基质相容性溶胶-凝胶固相微萃取涂层 直接萃取柑橘中农药残留

吴能 李晓庆 李秀娟 潘思轶

华中农业大学食品科学技术学院, 武汉 430070

摘要 为了开发新的可利用的基质相容性固相微萃取(solid phase microextraction, SPME)涂层, 促进活体 SPME 采样技术的发展。本研究评价了溶胶-凝胶聚二甲基硅氧烷萃取头在柑橘基质中的基质相容性, 建立了直接 SPME-气相色谱法检测柑橘果浆中有机磷农药的方法。结果表明: 在柑橘果肉匀浆并添加同样质量的水, 调节 pH 至 1.84、50 °C 萃取 60 min、搅拌速度为 1 200 r/min 条件下, 5 种有机磷农药在线性范围内具有良好的线性关系, $R^2 \geq 0.999$, 检测限为 0.002~0.046 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 加标回收率为 71.0%~125.3%, 相对标准偏差为 0.5%~15.6%。该萃取头在柑橘活体基质中可以连续使用 50 次以上。

关键词 基质相容性固相微萃取涂层; 活体采样; 溶胶-凝胶; 聚二甲基硅氧烷; 柑橘果浆

中图分类号 O 658.2 : S 481⁺.8 **文献标识码** A **文章编号** 1000-2421(2019)04-0103-10

固相微萃取(solid phase microextraction, SPME)已被广泛应用于环境、医药、食品研究等领域。由于 SPME 萃取头及其装置具有小巧、便于携带的优点, 且相对于传统的样品前处理方法, 微型化的 SPME 装置不会对生物样品造成严重甚至致命性的损伤, 所以, 近些年来 SPME 在原位和活体检测方面的应用引起了人们的广泛关注^[1-2]。然而, 当萃取头与复杂样品基质直接接触时, 样品基质中的大分子物质和其他非挥发性物质会沉积在涂层表面, 对萃取涂层造成不可逆的破坏, 故而活体分析要求 SPME 涂层具有良好的基质相容性和抗基质污染能力^[3]。因此, 开发具有生物相容性、耐生物腐蚀、具有一定的机械强度且对目标分析物具有高灵敏度的新型涂层, 是活体分析中最具挑战性的内容, 也是 SPME 在活体分析领域应用的重要推动力。鉴于此情况, Pawliszyn 小组研发了一种 PDMS/DVB/PDMS 新型萃取头, 该萃取头是在商用聚二甲基硅氧烷/二乙烯基苯(PDMS/DVB)萃取头外加了一层聚二甲基硅氧烷(PDMS)膜, 相比于原萃取头, 该萃取头表现出良好的抗基质干扰能力, 并且不会影响萃取性能^[4]。该萃取头已经成功应用于葡萄、草莓^[5]、牛油果^[6]、番茄、菠菜、胡萝卜^[7]和尿液^[8]等

样品的分析。另外, Ouyang 团队等^[9-16]也开发了一些新的基质相容性萃取头。除此之外, 也有少量其他基质相容性涂层报道^[17-19]。

溶胶-凝胶涂层凭借其优越的热稳定性和化学稳定性、涂层组成可以灵活调配、比表面积大、萃取容量高等优点, 在众多 SPME 涂层中表现出独特的优势^[20]。溶胶-凝胶涂层在复杂食品基质和活体分析中的基质相容性未见文献报道。

柑橘果浆富含有机酸、糖、色素和果胶等物质, 很容易沉积在涂层表面, 干扰涂层的萃取, 缩短涂层的使用寿命。目前, SPME 主要应用于高度稀释的柑橘果汁或过滤后的水果样品, 并且文献中 SPME 检测主要采用顶空萃取模式^[21-23], 这种克服基质干扰的模式显然不适用于原位和活体分析。

PDMS 涂层是研究最早的溶胶-凝胶涂层^[24], 也是溶胶-凝胶涂层的基本组成部分。本试验主要考察该涂层在柑橘果浆和活体柑橘中的基质相容性, 旨在为溶胶-凝胶类 SPME 涂层在原位和活体采样中的应用奠定基础。

1 材料与方法

1.1 仪器及色谱条件

SP-6890A 型气相色谱仪(配置氮磷检测器,

收稿日期: 2019-02-24

基金项目: 国家自然科学基金项目(30901007); 湖北省农业科技创新岗位项目(2016620000001044)

吴能, 硕士研究生, 研究方向: 食品科学. E-mail: 2570345066@qq.com

通信作者: 李秀娟, 博士, 教授, 研究方向: 食品品质与安全. E-mail: lixiujuan@mail.hzau.edu.cn

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; SE-54 毛细管柱(30 m×0.32 mm×0.25 μm), 兰州中科安泰分析科技有限公司; CH-1 高纯氢气发生器、CN-1 高纯氮气发生器和 CA-1 型静音无油空气泵, 武汉科林普丰仪器有限公司; DF-101S 型集热式恒温加热磁力搅拌器, 郑州长城科工贸有限公司; DHG-9123A 型电热恒温鼓风干燥箱, 上海精宏实验设备有限公司; TG-16G 型离心机, 上海安亭仪器有限公司; QL-861 型漩涡混合器, 江苏海门其林贝尔仪器制造有限公司; JYL-C022E 型九阳料理机, 九阳股份有限公司; Olympus TG4 显微照相机, 日本; 自制 SPME 手柄; 商用 SPME 手柄, 美国 Supelco 公司; 商用 100 μm 聚二甲基硅氧烷(PDMS)、65 μm 聚二甲基硅氧烷/二乙烯基苯(PDMS/DVB)和 85 μm 聚丙烯酸酯(PA)萃取头, 美国 Supelco 公司, 首次使用前均按出厂说明老化。

以高纯氮气为载气, 空气 0.042 MPa, 氢气 0.023 MPa, 柱头压 0.05 MPa, 尾吹气 0.08 MPa, 不分流进样。进样口温度 250 ℃, 检测器温度 270 ℃, 钨珠电流 3.2 A。柱温升温程序: 初温 120 ℃, 以 5 ℃/min 升至 180 ℃, 再以 15 ℃/min 升至 220 ℃, 保持 10 min。

1.2 试剂和材料

二嗪农(质量分数为 98%)、甲基对硫磷(质量分数为 99%)、毒死蜱(质量分数为 99%), 百灵威科技有限公司; 杀螟硫磷(质量分数为 97.1%), 上海阿拉丁生化科技股份有限公司; 水胺硫磷(质量分数为 99%), 北京和力顺科技有限公司; 甲醇、丙酮均为分析纯, 国药集团化学试剂有限公司; 实验用水为蒸馏水; 不锈钢丝(直径 150 μm), 深圳宝芳金属材料店。

表 1 列出了 5 种有机磷农药(organophosphorus pesticides, OPPs)的辛醇-水分配系数(logK_{ow})及其在水中的溶解度^[25]。

准确称取 5 种标准品各 10 mg 于 10 mL 容量瓶中, 分别配制质量浓度为 1.0 mg/mL 的标准储备液。根据各物质在 NPD 上的响应值, 配制不同浓度的混合标准溶液, 置于 4 ℃下存放。

试验样品为伦晚脐橙、南非橙和大甜橙, 购自华中农业大学超市。取新鲜、无机械损伤和病虫害的实验样品, 经去皮、匀浆, 准确称量后待用。

活体采样柑橘样品为温州蜜柑, 种植于华中农业大学果蔬基地, 选择柑橘树上无机械损伤和病虫

害的柑橘为试验样品, 使用一定浓度的 OPPs 水溶液均匀喷洒于柑橘表面。

表 1 5 种 OPPs 的辛醇-水分配系数及其在水中的溶解度
Table 1 The octanol-water partition coefficients and water solubility of five OPPs

农药 Pesticides	辛醇-水分配系数 logK _{ow}	水中的溶解度/ (mg/L) Water solubility
二嗪农 Diazinon	3.81	6.46
甲基对硫磷 Parathion-methyl	2.86	29.36
杀螟硫磷 Fenitrothion	3.30	10.29
毒死蜱 Dursban	4.96	0.36
水胺硫磷 Isocarbophos	2.70	70.07

1.3 试验方法

1) 涂层的制备。PDMS 涂层的制备参照文献[26], 但稍有改动: 只是未加入杯芳烃, 采用不锈钢丝涂覆; 涂层厚度为 63.0 μm; 涂层在使用前于 280 ℃老化 2 h。

2) SPME 操作。直接固相微萃取(direct immersion solid phase microextraction, DI-SPME): 取 150.0 g 柑橘果浆于 250 mL 的试剂瓶中, 加入一定量的有机磷混合标准溶液, 涡旋 5 min 使其充分混合; 取 4.5 g 加标柑橘果浆分装至 10 mL 萃取瓶中, 加入磁力搅拌子, 封紧瓶盖, 于 4 ℃冰箱中放置 12 h 使有机磷农药与样品基质充分结合; 打开萃取瓶, 加入 4.5 g 蒸馏水并封紧瓶盖, 在 1 200 r/min 搅拌速度下, 于 50 ℃预平衡 15 min, 然后将萃取头直接插入萃取瓶中, 在同一搅拌速度和温度下萃取 60 min; 萃取完后拔出萃取头于甲醇: 水(体积比为 1: 9)溶液中快速漂洗 10 s, 于气相色谱(GC)进样口解吸 10 min; 解吸完后于甲醇: 丙酮(体积比为 1: 1)混合溶剂中清洗 2 min, 用无尘纸小心擦拭干净; 擦拭后将萃取头置于 GC 进样口解吸 10 min, 去除残留溶剂。

活体固相微萃取: 用纸巾将施药柑橘表面的水分和杂质擦拭干净。用 22 规注射针插入柑橘中约 2 cm, 拔出注射针后, 将 PDMS 萃取头插入预先扎好的小孔中, 室温下萃取 25 min 后, 拔出萃取头, 于甲醇: 蒸馏水(体积比为 1: 9)中快速漂洗 10 s, 然后使用无尘纸将萃取头表面擦干, 随后在 270 ℃进样口解吸 10 min, 解吸后使用甲醇: 丙酮(体积比为 1: 1)的有机试剂清洗 2 min, 再用蘸有

该有机试剂的无尘纸擦拭, 280 °C 下老化 5 min, 即可进行下次萃取。

3) 涂层萃取性能比较。在水基质中直接萃取进行涂层萃取性能比较。SPME 条件: 萃取时间 30 min, 萃取温度 30 °C, 搅拌速度 600 r/min; 加标水平: 二嗪农 6.3 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 甲基对硫磷 250.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 杀螟硫磷 62.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 毒死蜱 3.8 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

4) 农药在柑橘浆基质中的稳定性研究。SPME 条件: 萃取时间 40 min, 萃取温度 30 °C, 搅拌速度 600 r/min; 加标水平: 二嗪农 18.8 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 甲基对硫磷 833.3 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 杀螟硫磷 500.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 毒死蜱 83.3 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 水胺硫磷 1 666.7 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

5) 萃取条件优化。柑橘果浆加标水平: 二嗪农 15.6 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 甲基对硫磷 781.3 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 杀螟硫磷 468.8 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 毒死蜱 78.1 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 水胺硫磷 1 562.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。柑橘基质加标前后气相色谱分离图的直接萃取条件: 萃取时间 40 min, 萃取温度 50 °C, 搅拌速度 1 200 r/min; 加标水平: 二嗪农 0.2 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 甲基对硫磷 6.3 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 杀螟硫磷 2.1 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 毒死蜱 1.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 水胺硫磷 16.7 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。根据一系列标准溶液直接进样建立的标准曲线, 将峰面积代入标准曲线方程中, 可得到萃取量, 峰面积越大, 表明萃取量越大, 萃取效率越高。

6) 涂层使用寿命评价。每做 10 次活体采样之后, 在蒸馏水中直接萃取获得相对萃取率, 进行涂层使用寿命评价, 同时拍照观察萃取头表面的变化。水基质直接萃取条件: 萃取时间 30 min, 萃取温度 50 °C, 搅拌速度 1 200 r/min; 加标水平: 二嗪农 2.8 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 甲基对硫磷 83.3 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 杀螟硫磷 27.8 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 毒死蜱 19.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 水胺硫磷 222.2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

2 结果与分析

2.1 涂层萃取性能比较

比较了溶胶-凝胶 PDMS、商用 PDMS、PDMS/DVB 和 PA 萃取头的萃取性能, 见图 1。由图 1 可知, 自制的溶胶-凝胶 PDMS 涂层的萃取效率比其他 3 种商用涂层好。各种溶胶-凝胶涂层都可以在 PDMS 涂层的配料组成中进行调整以增强萃取能力, 因而溶胶-凝胶涂层具有很好的开发前景。

2.2 农药在柑橘果浆基质中的稳定性研究

将加标柑橘果浆于 4 °C 放置不同时间, 考察

5 种 OPPs 在柑橘果浆中的稳定性, 见图 2。经显著性差异分析, 发现 5 种 OPPs 在 32 h 内基本保持稳定 ($P > 0.05$), 且随着放置时间的延长, 萃取重现性逐渐变好, 可能是农药与果浆基质的结合随着时间的延长而更加稳定。

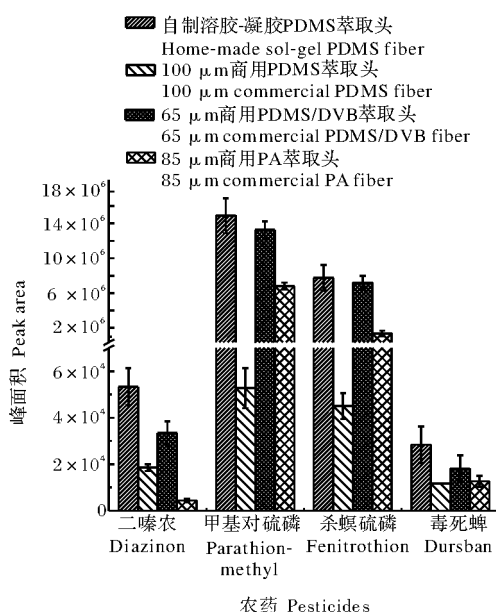


图1 水基质中4种萃取头的萃取能力比较

Fig.1 Comparison of extraction capability of four fibers with DI-SPME mode

2.3 萃取条件优化

1) 萃取温度。萃取温度对萃取效率的影响见图 3。温度对 5 种 OPPs 的萃取效率的影响似乎与它们在水中的辛醇-水分配系数 ($\log K_{ow}$) 和溶解度相关。水胺硫磷的 $\log K_{ow}$ 最小, 在水中溶解度远远大于其他 OPPs, 升高温度并没有增大它的萃取效率, 当温度升高至 70 °C 时, 其萃取效率反而下降, 这可能是由于温度升高, 分析物在萃取涂层中的分配系数明显下降。而其他 4 种 OPPs 萃取效率随着温度的升高而上升, 可能是因为它们在水中的溶解度随着温度的升高而增大, 同时升温也促进了二嗪农、甲基对硫磷、杀螟硫磷和毒死蜱这 4 种 OPPs 从柑橘基质向水中扩散, 进而向涂层表面扩散, 当温度超过 60 °C, 甲基对硫磷和杀螟硫磷的萃取效率也开始下降。但是, 对于 $\log K_{ow}$ 最大、溶解度最小的二嗪农和毒死蜱 2 种农药, 其萃取效率依然在增大。总体上来说, 5 种农药在 60 °C 时萃取效果最好, 但 60 °C 时萃取重现性较差, 可能是 60 °C 时农药在基质中不够稳定, 所以选择 50 °C 为最佳萃取温度。

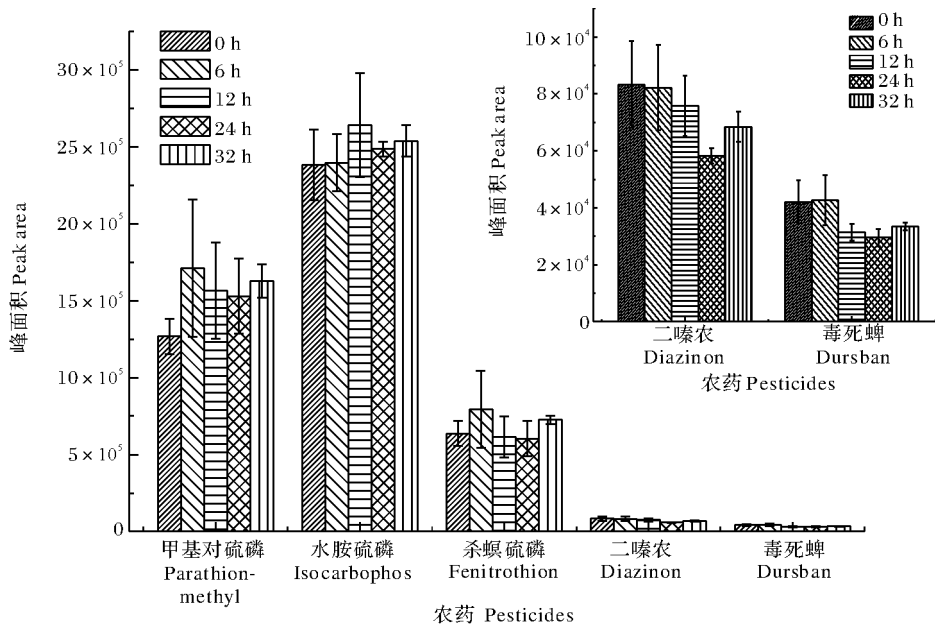


图 2 5 种有机磷农药在柑橘果浆基质中的稳定性

Fig.2 Stability of five OPPs in orange matrix

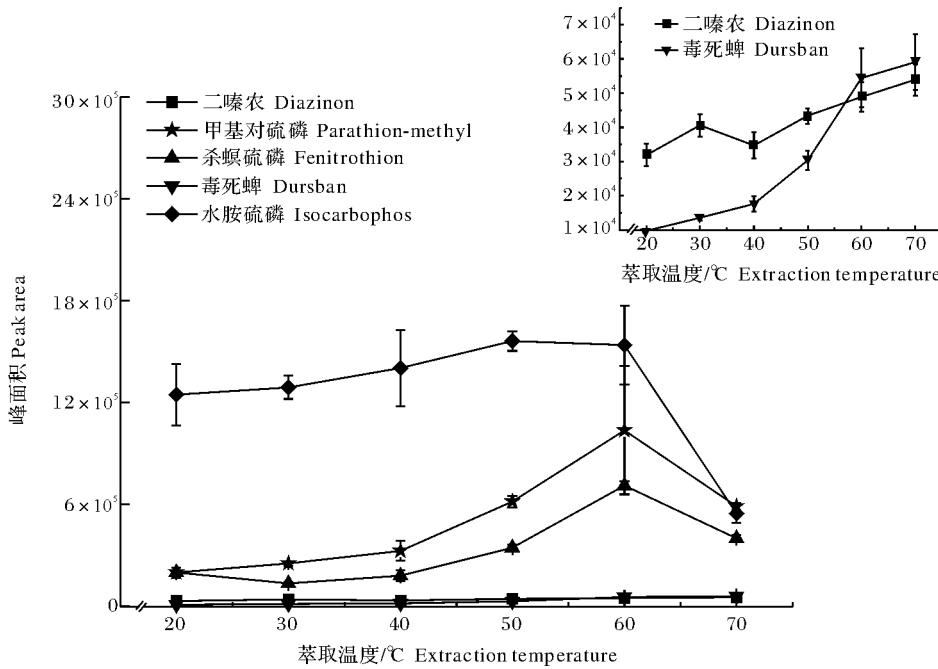


图 3 萃取温度对柑橘中有机磷农药萃取效率的影响

Fig.3 Effects of extraction temperature on the extraction of OPPs in citrus pulp

2) 萃取时间。图 4 考察了萃取时间对萃取效率的影响。结果表明,二嗪农、杀螟硫磷和毒死蜱在 60 min 时达到萃取平衡,而水胺硫磷则在 70 min 达到萃取平衡。甲基对硫磷在 60、70 min 时萃取效率变化不大,而 80 min 后萃取效率又上升,说明甲基对硫磷在 80 min 还未达到萃取平衡。综合考虑,选择 60 min 为后续萃取时间。

3) NaCl 添加量。加入不同量的 NaCl 粉末来探究离子强度对萃取效率的影响,结果见图 5。由图 5 可知,除水胺硫磷外,其余 4 种农药的萃取效率随着 NaCl 浓度的增大而减小。这可能是因为柑橘果浆基质(如悬浮物和大分子)很容易吸附 OPPs,虽然加入 NaCl 降低了这 4 种 OPPs 在水溶液中的溶解度,但是其自由浓度却大大降低,导致萃取效率

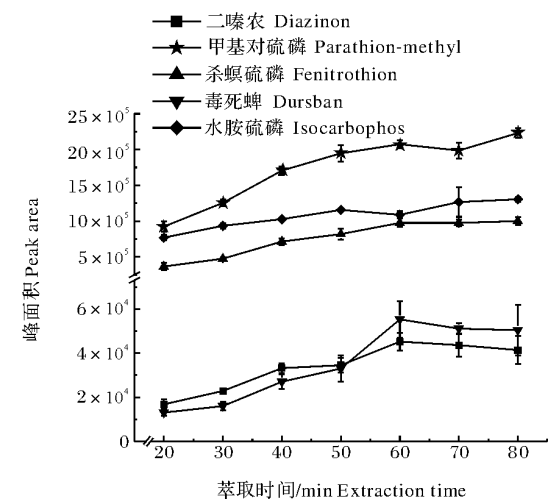


图 4 萃取时间对柑橘中有机磷农药萃取效率的影响
Fig.4 Effects of extraction time on the extraction of OPPs in citrus pulp

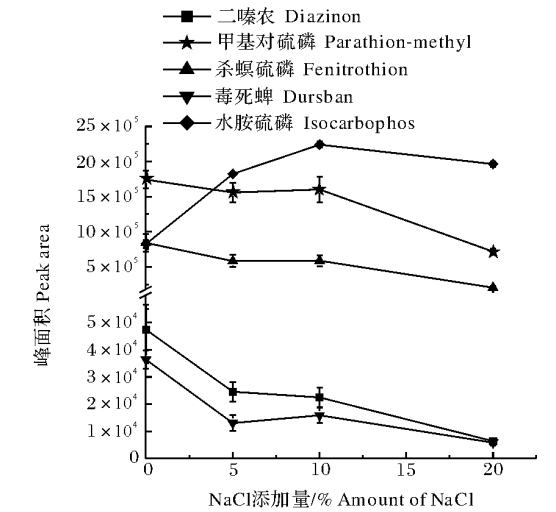


图 5 NaCl 的添加量对柑橘中有机磷农药萃取效率的影响
Fig.5 Effects of amount of NaCl on the extraction of OPPs in citrus pulp

下降。这种现象常发生在目标分析物为中等极性和疏水性较强的农药时^[16-17]。所以,后续实验中不加 NaCl。

4)搅拌速率。搅拌能加快目标分析物从样品基质向溶液、溶液向涂层表面的质量传递速率。由图 6 可知,随着搅拌速率的增大,除水胺硫磷外,涂层对二嗪农、甲基对硫磷、杀螟硫磷和毒死蜱这 4 种农药的萃取效率显著增大,这可能是因为水胺硫磷在水中的溶解度较大,在柑橘基质中的浓度已经达到了饱和状态,所以搅拌速率对水胺硫磷的萃取效率影响不大^[23]。

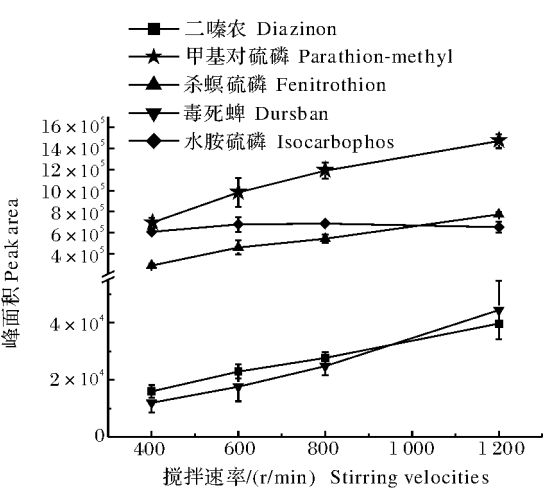


图 6 搅拌速率对柑橘中有机磷农药萃取效率的影响
Fig.6 Effects of stirring velocities on the extraction of OPPs in citrus pulp

5)pH。原柑橘果浆样品基质的 pH 为 4.20,利用一定浓度的盐酸溶液或氢氧化钠溶液调节样品溶液的 pH,使其分别为 1.84、7.01 和 9.01,考察 pH 对涂层萃取效率的影响。由图 7 可见,溶液的 pH 对涂层的萃取效率影响不显著,总体表现在 pH 1.84 时萃取效果较好且萃取重现性最好。在 pH 7.01 和 pH 9.01 时,涂层的萃取稳定性下降,这可能是因为在中性和碱性条件下,有机磷农药容易降解;在 pH 9.01 时,样品在 4℃放置有凝沉现象,这是因为柑橘果胶在温度较低、偏碱性的条件下溶解度降低而沉淀。所以后续试验调节样品 pH 为 1.84。

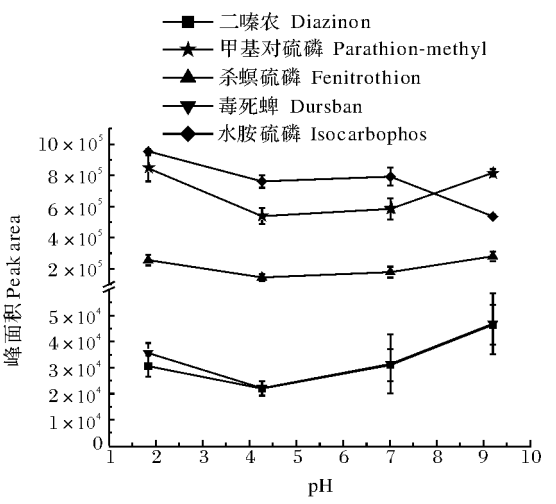


图 7 pH 对柑橘中有机磷农药萃取效率的影响
Fig.7 Effects of pH on the extraction of OPPs in citrus pulp

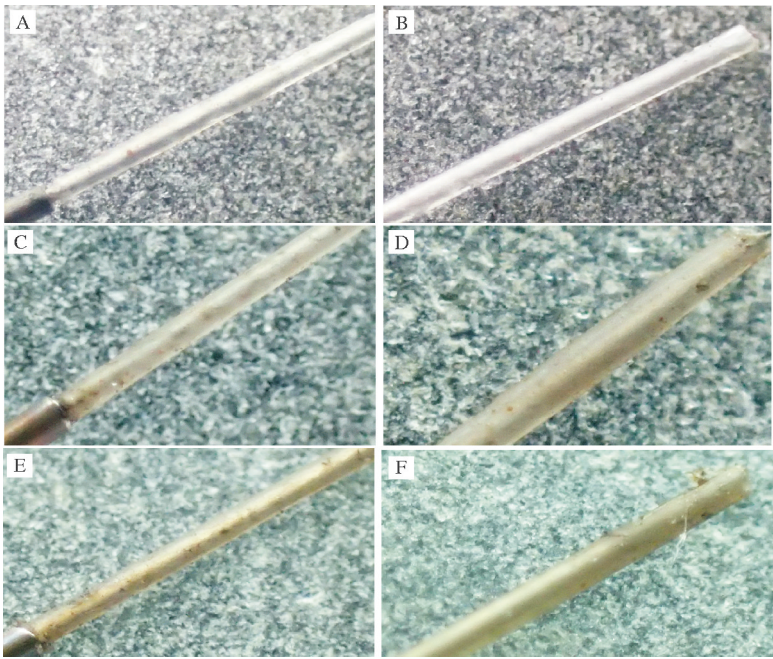
2.4 涂层使用寿命评价

溶胶-凝胶 PDMS 涂层在柑橘活体采样过程中的使用寿命评价见表 2 和图 8。由表 2 可知,对于二嗪农、甲基对硫磷和毒死蜱,其萃取能力变化不大;对于杀螟硫磷和水胺硫磷,其萃取能力略有下降,这可能是因为萃取率变化与分析物有关。对 5 种 OPPs,该涂层在 50 次使用过程中相对萃取率在 77.4%~126.8% 波动。Naccarato 等^[7] 研发的

PDMS/DVB/PDMS 涂层在番茄果浆中经 100 次萃取后,8 种分析物的相对萃取率在 60%~130% 波动,由于真实样品基质的复杂性,其萃取波动一般比水基质大。由图 8 可知,溶胶-凝胶 PDMS 涂层在柑橘基质中萃取 50 次后表面虽然较光滑,但是涂层表面有少许杂质附着且颜色加深。总体来看,该溶胶-凝胶 PDMS 涂层能够满足柑橘活体检测的需求,后续将开展更多的基质相容性实验研究。

表 2 溶胶-凝胶 PDMS 萃取头在施药柑橘中活体萃取 50 次过程中的使用寿命评价

有机磷农药 OPPs	相对萃取率/% Relative extraction ratios				
	使用前	20 次后	30 次后	40 次后	50 次后
	Before the first use	After 20 extraction cycles	After 30 extraction cycles	After 40 extraction cycles	After 50 extraction cycles
二嗪农 Diazinon	100.0	95.0	86.7	84.1	109.9
甲基对硫磷 Parathion-methyl	100.0	115.4	85.7	83.6	107.9
杀螟硫磷 Fenitrothion	100.0	126.8	93.2	89.7	88.3
毒死蜱 Dursban	100.0	111.8	93.1	85.8	93.5
水胺硫磷 Isocarbofos	100.0	84.8	77.4	79.8	79.0



A: 萃取前萃取头底部 The bottom of the fiber before extraction; B: 萃取前萃取头顶部 The top of the fiber before extraction; C: 底部萃取 30 次后 The bottom of the fiber after 30 extraction cycles; D: 顶部萃取 30 次后 The top of the fiber after 30 extraction cycles; E: 底部萃取 50 次后 The bottom of the fiber after 50 extraction cycles; F: 顶部萃取 50 次后 The top of the fiber after 50 extraction cycles.

图 8 显微相机拍摄的溶胶-凝胶 PDMS 萃取头在活体柑橘中萃取后萃取头底部和顶端表面情况(×4)

Fig.8 Stereomicroscope images of the bottom and the top of the sol-gel PDMS fiber coating after extraction(×4)

2.5 柑橘果浆中 OPPs 残留检测方法的建立与评价

在优化的实验条件下(50 ℃, 60 min, 1 200

r/min和 pH 1.84),在空白柑橘果浆中添加标准溶液配制成一定浓度的加标样品,考察 SPME/GC-NPD 方法的灵敏度、准确度和精密度,结果见表 3。

5 种农药在一定浓度范围内线性关系很好,相关系数 R^2 在 0.999 5~1.000 0,检测限和定量限远远低于 GB 2763—2016《食品中农药最大残留限量》和欧盟制定的最大残留限量标准^[27],且连续 3 次重复实验的 RSD 在 2.0%~9.3%,符合国际食品法典委员会的相关标准(CAC/GL 90—2017),说明该方法的灵敏度高、重现性好,能够满足检测需求。由图 9 可知,萃取后 5 种 OPPs 分离度好,且杂峰较少,

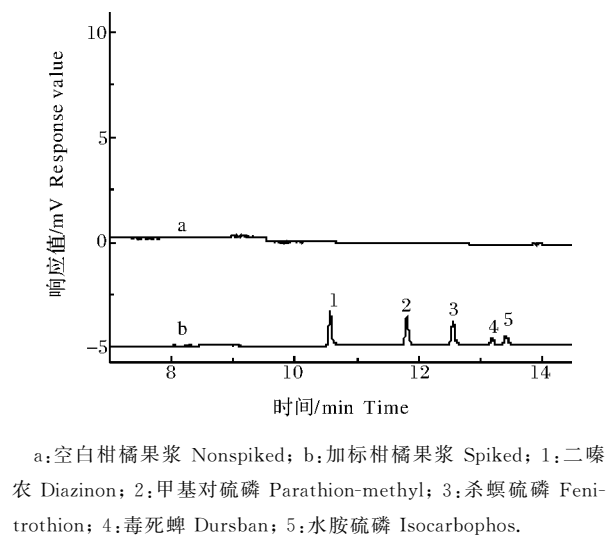


图 9 加标和空白基质中萃取后的气相色谱图
Fig.9 GC chromatograms of blank and spiked citrus pulp after extraction

进一步说明溶胶-凝胶 PDMS 涂层能抗复杂基质干扰。

利用加标回收率来验证方法的准确度,结果见表 4。在 3 个不同的加标水平下,方法的加标回收率在 71.0%~125.3%,且方法的 $RSD\leq 15.6\%$ 。将本方法和文献中的方法进行比较,由表 5 可知,相对于固相萃取^[28]和 QuEChERS^[29-31]等方法,本实验无需使用有机溶剂,样品前处理方法简单、快速、高效。相对于磁固相萃取^[32]和 DI-SPME 检测需要大量稀释柑橘样品中的农药^[21],本方法中的柑橘果浆仅作 1 倍稀释却具有更低的检测限。

应用 DI-SPME/GC-NPD 法,分别检测南非橙、大甜橙和伦晚脐橙 3 个品种的柑橘样品中 5 种有机磷农药残留,结果是均未检出农药残留。

3 讨 论

采用溶胶-凝胶 PDMS 萃取头建立了柑橘果浆中 5 种有机磷农药残留量检测的 DI-SPME/GC-NPD 方法。相对于现有的液液萃取、固相萃取、QuEChERS 和磁固相萃取等方法,本方法具有样品前处理简单快速、检测灵敏度高、精密度好等特点,同时 SPME 无需使用溶剂,集采样、分离、富集和进样于一体,且微型化的 SPME 装置小巧便携,不会对生物样品造成严重甚至致命性的侵害,非常适合

表 3 DI-SPME-GC/NPD 方法的分析性能

Table 3 Analytical performance by the proposed DI-SPME-GC/NPD method

分析物 Analyte	线性范围/ ($\mu\text{g}/\text{kg}$) Linear range	线性相关系数 R^2	检测限/ ($\mu\text{g}/\text{kg}$) LOD	定量限/ ($\mu\text{g}/\text{kg}$) LOQ	相对标准偏差/% RSD	最大限量标准/(mg/kg) MRL	
						GB 2763—2016	EU
二嗪农 Diazinon	0.1~8.3	0.999 7	0.002	0.007	9.3	0.20	0.01
甲基对硫磷 Parathion-methyl	0.8~2 500.0	1.000 0	0.010	0.038	5.9	0.02	0.01
杀螟硫磷 Fenitrothion	0.5~833.3	1.000 0	0.007	0.024	2.0	0.58 *	0.01
毒死蜱 Dursban	0.7~583.3	0.999 5	0.032	0.107	9.3	1.00	0.30
水胺硫磷 Isocarboxophos	2.1~666.7	1.000 0	0.046	0.154	4.6	0.02	0.01

注: * :表示临时限量。Note: * shows provisional limit.

室外活体和原位分析,本方法为柑橘中活体采样技术奠定了基础。

基质相容性固相微萃取涂层的研发使得活体 SPME 采样技术得以研究和应用,目前的基质相容性涂层研制技术的研究主要集中在商用涂层^[4-8]、静电纺丝技术^[13]、离子液体^[17-18]等,溶胶-凝胶技术是一种无机聚合过程,涂层组成可灵活调配,且形式灵活多样、萃取容量大、热稳定性和化学稳定性高^[33],

溶胶-凝胶材料在生物医学等领域表现出良好的生物相容性^[34],但是溶胶-凝胶涂层在复杂食品基质中的基质相容性尚未有研究报道。本研究重点考察了溶胶-凝胶 PDMS 涂层在柑橘基质中的基质相容性,该涂层表现出良好的萃取重现性和抗基质污染能力,能够在活体柑橘中连续萃取 50 次以上,表明溶胶-凝胶涂层在植物活体实时追踪检测方面具有良好的应用前景。

表 4 柑橘果浆的加标回收率及精密度

Table 4 Recoveries and precision (RSD) of pesticides in spiked citrus pulp samples

分析物 Analyte	加标水平/($\mu\text{g/kg}$) Spiking levels	测量值/($\mu\text{g/kg}$) Value obtained	回收率/% Recovery	相对标准偏差/% RSD
二嗪农 Diazinon	0.2	0.2 ± 0.0	84.1 ± 14.3	3.0
	0.8	0.7 ± 0.0	78.3 ± 1.7	3.2
	1.7	1.2 ± 0.0	71.0 ± 2.5	8.4
甲基对硫磷 Parathion-methyl	6.3	6.3 ± 0.1	100.8 ± 1.2	1.4
	25.0	21.3 ± 1.7	85.1 ± 6.7	12.0
	50.0	41.5 ± 0.1	82.9 ± 0.1	1.6
杀螟硫磷 Fenitrothion	2.1	2.6 ± 0.3	125.3 ± 13.6	9.4
	8.3	7.0 ± 0.0	83.6 ± 0.2	0.5
	16.7	12.7 ± 0.2	76.6 ± 0.9	13.3
毒死蜱 Dursban	1.5	1.3 ± 0.1	86.3 ± 8.2	8.2
	5.8	5.6 ± 0.1	96.2 ± 1.8	3.1
	11.7	9.4 ± 1.0	80.1 ± 8.4	15.6
水胺硫磷 Isocarbophos	16.7	15.4 ± 0.5	92.6 ± 3.0	4.8
	66.7	54.1 ± 0.5	81.1 ± 0.8	1.4
	133.3	124.3 ± 0.3	93.3 ± 0.2	3.9

表 5 本方法与文献中的柑橘中有机磷农药残留检测方法对比

Table 5 Comparison of the proposed SPME method with other techniques reported in literatures for determination of OPPs in citrus

方法 Methods	基质 Matrix	线性范围 Linear range	检测限 LOD	线性相关系数 R^2	相对标准偏差/% RSD	回收率/% Recovery	参考文献 Ref.
SPE-GC/MS	经乙腈萃取后的粗提取物	0.1~10 mg/L	辛硫磷 4.1 $\mu\text{g/kg}$, 二嗪农 6.7 $\mu\text{g/kg}$	>0.99	0.9~4.9	87.3~102.7	[28]
MSPE-GC/NPD	经 0.45 μm 滤膜过滤的市售柑橘汁	0.003~50 $\mu\text{g/L}$	0.001~0.005 $\mu\text{g/L}$	0.997 3~0.999 9	2.6~5.1, 3.5~6.9 ¹⁾	86.6~107.5	[29]
QuEChERS-dSPE-DLLE/LC-LC/MS	市售的柑橘汁	5~400 $\mu\text{g/kg}$	0.03~0.19 $\mu\text{g/kg}$	>0.99	0~18	82.0~124.0	[31]
DI-SPME-GC-NPD	稀释的柑橘果汁(1:50的稀释率)	1.0~500 $\mu\text{g/kg}$	0.003~0.093 $\mu\text{g/kg}$	0.992 1~0.999 2	2.0~9.2	80.1~96.3	[21]
QuEChERS-dSPE-LC-MS/MS	未经稀释的柑橘果浆	10~250 $\mu\text{g/kg}$	1~11 $\mu\text{g/kg}$	0.991 3~0.999 9	3.1~18.3	90.4~104	[32]
QuEChERS-UH-PLC-MS/MS	未经稀释的柑橘果浆	—	3.0~7.6 $\mu\text{g/L}$	部分分析物 <0.99	<19	70.0~118.0	[30]
DI-SPME-GC-NPD	柑橘果浆(1:1 稀释率)	0.1~666.7 $\mu\text{g/kg}$	0.002~0.046 $\mu\text{g/kg}$	0.999 5~1.000 0	2.0~9.3	70.98~125.30	本研究 This study

注 Note: 1) 2.6~5.1 指的是一天内的相对标准偏差 2.6-5.1 means the intra-day RSD; 3.5~6.9 指的是不同天的相对标准偏差 3.5-6.9 means the inter-day RSD.

参 考 文 献

[1] XU J, CHEN G, HUANG S, et al. Application of *in vivo* solid-phase microextraction in environmental analysis[J]. Trends in analytical chemistry, 2016, 85: 26-35.

[2] XU J, LUO J, RUAN J, et al. *In vivo* tracing uptake and elimination of organic pesticides in fish muscle[J]. Environmental science and technology, 2014, 48(14): 8012-8020.

[3] 殷立, 徐剑桥, 黄周兵, 等. 活体固相微萃取技术在动植物体内污染物分析中的应用[J]. 化学进展, 2017(9): 102-109.

[4] SOUZA-SILVA E A, GIONFRIDDO E, ALAM M N, et al. Insights into the effect of the PDMS-layer on the kinetics and thermodynamics of analyte sorption onto the matrix-compatible SPME coating[J]. Analytical chemistry, 2017, 89(5): 2978-2985.

[5] SOUZA-SILVA E A, LOPEZ-AVILA V, PAWLISZYN J. Fast and robust direct immersion solid phase microextraction coupled with gas chromatography-time-of-flight mass spectrometry method employing a matrix compatible fiber for determination of triazole fungicides in fruits[J]. Journal of chromatogra-

- phy A, 2013, 1313(19): 139-146.
- [6] GRAZIA S D, GIONFRIDDO E, PAWLISZYN J. A new and efficient solid phase microextraction approach for analysis of high fat content food samples using a matrix-compatible coating[J]. *Talanta*, 2017, 167: 754-760.
- [7] NACCARATO A, PAWLISZYN J. Matrix compatible solid phase microextraction coating, a greener approach to sample preparation in vegetable matrices[J]. *Food chemistry*, 2016, 206: 67-73.
- [8] NACCARATO A, GIONFRIDDO E, ELLIANI R, et al. Investigating the robustness and extraction performance of a matrix-compatible solid-phase microextraction coating in human urine and its application to assess 2-6-ring polycyclic aromatic hydrocarbons using GC-MS/MS[J]. *Journal of separation science*, 2017, 41(4): 929-939.
- [9] FANG X, CHEN G, QIU J, et al. Determination of four salicylic acids in aloe by *in vivo* solid phase microextraction coupling with liquid chromatography-photodiode array detection[J]. *Talanta*, 2018, 184: 520-526.
- [10] UYANG G, OAKES K D, BRAGG L M, et al. Sampling-rate calibration for rapid and nonlethal monitoring of organic contaminants in fish muscle by solid-phase microextraction[J]. *Environmental science and technology*, 2011, 45(18): 7792-7798.
- [11] XU J, HUANG S, WU R, et al. Bioinspired polydopamine sheathed nanofibers for high-efficient *in vivo* solid-phase microextraction of pharmaceuticals in fish muscle[J]. *Analytical chemistry*, 2015, 87(6): 3453-3459.
- [12] XU J, WU R, HUANG S, et al. Polyelectrolyte microcapsules dispersed in silicone rubber for *in vivo* sampling in fish brains[J]. *Analytical chemistry*, 2015, 87(20): 10593-10599.
- [13] QIU J, CHEN G, ZHU F, et al. Sulfonated nanoparticles doped electrospun fibers with bioinspired polynorepinephrine sheath for *in vivo* solid-phase microextraction of pharmaceuticals in fish and vegetable[J]. *Journal of chromatography A*, 2016, 1455: 20-27.
- [14] QIU J, CHEN G, LIU S, et al. Bioinspired polyelectrolyte-assembled graphene-oxide-coated C18 composite solid-phase microextraction fibers for *in vivo* monitoring of acidic pharmaceuticals in fish[J]. *Analytical chemistry*, 2016, 88(11): 5841-5848.
- [15] CHEN G, QIU J, XU J, et al. A novel probe based on phenylboronic acid functionalized carbon nanotubes for ultrasensitive carbohydrate determination in biofluids and semi-solid biotissues[J]. *Chemical science*, 2016, 7(2): 1487-1495.
- [16] QIU J, WANG F, ZHANG T, et al. A novel electrosorption-enhanced solid-phase microextraction device for ultrafast *in vivo* sampling of ionized pharmaceuticals in fish[J]. *Environmental science and technology*, 2018, 52(1): 145-151.
- [17] AN J, ANDERSON J L. Determination of UV filters in high ionic strength sample solutions using matrix-compatible coatings for solid-phase microextraction[J]. *Talanta*, 2018, 182: 74-82.
- [18] CAGLIERO C, NAN H, BICCHI C, et al. Matrix-compatible sorbent coatings based on structurally-tuned polymeric ionic liquids for the determination of acrylamide in brewed coffee and coffee powder using solid-phase microextraction[J]. *Journal of chromatography A*, 2016, 1459: 17-23.
- [19] SHI Z, CHEN D, CHEN T T, et al. *In vivo* analysis of two new fungicides in mung bean sprouts by solid phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry[J]. *Food chemistry*, 2019, 275: 688-695.
- [20] AMIRI A. Solid-phase microextraction-based sol-gel technique[J]. *Trends in analytical chemistry*, 2016, 75: 57-74.
- [21] YU J, WU C, XING J. Development of new solid-phase microextraction fibers by sol-gel technology for the determination of organophosphorus pesticide multiresidues in food[J]. *Journal of chromatography A*, 2004, 1036 (2): 101-111.
- [22] WANG M, ZHOU X, ZANG X, et al. Determination of pesticides residues in vegetable and fruit samples by solid-phase microextraction with a covalent organic framework as the fiber coating coupled with gas chromatography-electron capture detection[J]. *Journal of separation science*, 2018, 41 (21): 4038-4046.
- [23] GIONFRIDDO E, SOUZA-SILVA E A, PAWLISZYN J. Head-space versus direct immersion solid phase microextraction in complex matrixes: investigation of analyte behavior in multi-component mixtures[J]. *Analytical chemistry*, 2015, 87 (16): 8448-8456.
- [24] CHONG S L, WANG D, HAYES J D, et al. Sol-gel coating technology for the preparation of solid-phase microextraction fibers of enhanced thermal stability[J]. *Analytical chemistry*, 1997, 69(19): 3889-3898.
- [25] SC (Royal Society of Chemistry). ChemSpider [DB/OL]. [2019-03-19]. <http://www.chemspider.com>.
- [26] LI X, ZENG Z, GAO S, et al. Preparation and characteristics of sol-gel-coated calix[4]arene fiber for solid-phase microextraction[J]. *Journal of Chromatography A*, 2004, 1023(1): 15-25.
- [27] European commission. EU pesticides database [DB/OL]. [2019-03-19]. <http://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticides-database/public/?event=pesticide.residue.selection&language=EN>.
- [28] NAGASHIMA H, HIRAO A, TOKUDA Y, et al. Simultaneous determination of seven kinds of fungicides in citrus fruits by gas chromatography/mass spectrometry[J]. *Journal of the food hygienic society of Japan (Shokuhin Eiseigaku Zasshi)*, 2016, 57(4): 101-106.
- [29] RIZZETTI T M, KEMMERICH M, MARTINS M L, et al. Optimization of a QuEChERS based method by means of central composite design for pesticide multiresidue determination in orange juice by UHPLC-MS/MS[J]. *Food chemistry*, 2016, 196: 25-33.
- [30] LAWAL A, WONG R C S, TAN G H, et al. Multi-pesticide residues determination in samples of fruits and vegetables using chemometrics approach to QuEChERS-dSPE coupled with ionic liquid-based DLLME and LC-MS/MS[J]. *Chromatographia*,

2018,81(5):759-768.

[31] GOLGE O,KABAK B.Determination of 115 pesticide residues in oranges by high-performance liquid chromatography-triple-quadrupole mass spectrometry in combination with QuEChERS method[J].Journal of food composition and analysis, 2015,41:86-97.

[32] MAHPISHANIAN S,SERESHTI H.Three-dimensional graphene aerogel-supported iron oxide nanoparticles as an efficient adsorbent for magnetic solid phase extraction of organophosphorus pesticide residues in fruit juices followed by gas chromatographic determination[J].Journal of chromatography A, 2016,1443:43-53.

[33] 赵丽丽,张雪娜,李秀娟,等.水胺硫磷分子印迹固相微萃取涂层的制备及在果蔬水胺硫磷农药检测中的应用[J].华中农业大学学报,2018,37(6):104-110.

[34] OWENS G J,SINGH R K,FOROUTAN F,et al.Sol-gel based materials for biomedical applications[J].Progress in materials science,2016,77:1-79.

Matrix-compatible sol-gel coating for direct immersion solid-phase microextraction of pesticides residues in citrus

WU Neng LI Xiaoqing LI Xiujuan PAN Siyi

College of Food Science and Technology, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China

Abstract In order to develop new available matrix-compatible solid phase microextraction (SPME) coating and promote the development of *in vivo* SPME sampling technology in agriculture, the matrix compatibility of sol-gel polydimethylsiloxane coating was evaluated and a simple and sensitive DI-SPME/ gas chromatography method was established for analysis of five organophosphorus pesticides in citrus pulp. When the citrus pulp was diluted by equal amount of water, adjusted to pH 1.84, and subjected to DI-SPME at 50 °C for 60 min with a stirring rate of 1 200 r/min, the good linear ranges were obtained with linear regression coefficients (R^2) greater than 0.999 for all test compounds in citrus matrix as well as low limits of detection (ranging from 0.002 to 0.046 $\mu\text{g/kg}$), good repeatability (0.5%-15.6%) and high recoveries (71.0%-125.3%). The sol-gel fiber could be used more than 50 times for *in vivo* sampling in citrus pulp.

Keywords matrix-compatible solid-phase microextraction coating; *in vivo* sampling; sol-gel; polydimethylsiloxane; citrus pulp

(责任编辑:赵琳琳)