

吉 林 农 业 大 学
硕士研究生学位论文

单位代码: 1 0 1 9 3

编 号: 2000-s18

人参中有机氯农药多残留 固相微萃取气质联用分析方法的研究

Studies on Multiresidue Analytical Method of Organochlorine
Pesticides in Panax Ginseng Using SPME-GC/MS

研 究 生 姓 名 : 李 靖

专 业 : 环 境 工 程

研 究 方 向 : 农业环境保护

导师姓名及职称 : 范志先 教授

吉 林 农 业 大 学

二〇〇〇年五月

前 言

人参 (*Panax ginseng* C.A.Mey) 作为我国传统的中药材, 其滋补强身的功能越来越受到人们的重视, 但为防除人参的病虫草害, 不可避免地要施用化学农药, 作为多年生的草本植物人参可能会被生长环境中施用的农药污染。现已限用或禁用的高持久性有机氯农药如六六六、滴滴涕在 70 年代曾作为我国主要的杀虫剂被大量应用于人参, 以致于现在的人参产品及其生长环境中也有被检出的报道。现在使用的五氯硝基苯、百菌清等有机氯农药的持久性和慢性毒性小于六六六和滴滴涕, 但人为地不合理大量使用仍有可能造成对人参的污染。人们在食用人参的时候, 不仅摄取了人参有益于人体健康的成份, 而且同时也将残存在人参中的微量农药摄入体内, 超过限量标准的农药日积月累就会造成对人体健康的危害。因此人参质量的好坏直接影响到药物的疗效和安全性。为了加强对人参上农药使用的管理和监测, 建立人参中农药多残留分析方法是实现这种管理和监测的先决条件。

在农药的残留分析中, 定量分析的目的是检测样品中残留的农药是否超过了最大允许残留限量。但定量必须是在该农药确证的前提下才可以进行。以往的定性工作主要是依靠化合物的色谱保留行为来完成, 这对于自身组分十分复杂而且在环境中生长数年的人参和传统的硫酸磺化净化方法来说, 显然不十分可靠。其后果有可能造成对人参中农药污染程度的误判, 不仅误导了消费者对人参的食用, 而且也影响到了人参的出口。因此, 采用 GC/MS 建立一套在准确定性基础上的定量方法来分析人参中有机氯农药残留量是十分必要的。

摘要

本文对六六六 (α 、 β 、 γ 、 δ 4 种立体异构体)、滴滴涕 (op' -DDT 和 pp' -DDT 2 种异构体) 及其有毒理学意义的主要降解产物滴滴滴 (pp' -DDD) 和滴滴伊 (pp' -DDE)、五氯硝基苯、六氯苯和百菌清共 11 种有机氯农药在人参中的多残留分析方法进行了研究。建立了以乙腈-水混合溶剂作为提取体系, 固相萃取 (简称为 SPE) 和固相微萃取 (简称为 SPME) 作为提取液的净化、富集手段, GC/MS 作为定性、定量测定的多残留分析方法。

本文首先对该方法的基础 — 11 种有机氯化合物 SPME 动力学和热力学进行了深入细致的研究。确定在中速搅拌和无盐条件下, 以 100 μ m 聚二甲基硅烷 (PDMS) SPME 萃取头对水溶液中的 11 种有机氯化合物进行 60min 直接萃取, 效率最高。在温度为 280 $^{\circ}$ C 条件下, 解析 2min, 能够使萃取头上的待测物质全部解析。采用 0.8mm 内径内衬管以加大载气流速使待测物质迅速转移至色谱柱, 防止了色谱峰的拖尾。

该方法采用乙腈-水 (V/V=65:35) 混合溶剂超声波提取人参样品中的 11 种有机氯化合物, 提取液经过反相 C₁₈ SPE 柱净化后, 以丙酮-水 (V/V=90:10) 混合溶剂洗脱。洗脱液经旋转蒸发掉全部丙酮后, 进行 SPME 的选择性富集, 以无溶剂的进样方式进入色谱柱。采用 DB-1 毛细管色谱柱, 程序升温分离 11 种化合物。根据所选择的每种化合物的特征目标监测离子, 在质谱选择监测离子 (SIM) 方式下, 对每种化合物进行定性、定量测定。在质谱检测器上, 11 种有机氯化合物在浓度 0.01~100 μ g/L 范围内呈良好线性关系, 相关系数为 0.9921~0.9999。11 种化合物的检出限在 0.02~200 μ g/L 的范围内。对人参样品 3 个水平的平均添加回收率和精密度都符合农药残留试验准则。与传统的索氏提取 (或超声波提取) — 磺化法净化前处理技术相比, 该方法大大减少了有机溶剂的使用; 操作简便, 全部操作时间缩短为 3h; 结果准确可靠; 而且实现了低浓度待测组分在质谱上的定性、定量测定。

关键词: 人参, 有机氯, 农药残留, 固相微萃取 (SPME), 气质联用 (GC/MS)

目 录

前言.....	I
摘要.....	II
目录.....	III
第一章 引言.....	1
1.1 农药残留和多残留分析技术.....	1
1.2 人参中农药残留现状及危害.....	2
1.3 常见有机氯农药理化性质及毒理学研究进展.....	2
1.3.1 六六六.....	2
1.3.2 DDT 及其代谢物.....	4
1.3.3 百菌清	5
1.3.4 六氯苯.....	7
1.3.5 五氯硝基苯.....	8
第二章 SPE、SPME 和 SWE 技术.....	11
2.1 SPE 技术	11
2.2.1 SPE 基本理论.....	11
2.2.2 SPE 在农药残留分析中的应用.....	11
2.2 SPME 技术.....	12
2.2.1 SPME 装置.....	12
2.2.2 SPME 工作原理.....	12
2.2.3 萃取模式.....	14
2.2.4 SPME-SWE 技术.....	14
2.2.5 SPME 方法建立.....	15
2.2.5 SPME 在农药残留分析中的应用.....	16
第三章 人参中有机氯农药残留传统分析技术	17
3.1 有机氯农药残留分析方法概述.....	17
3.1.1 提取.....	17
3.1.2 净化.....	17
3.1.3 定量分析方法.....	17
3.1.4 人参及其他中草药有机氯农药残留分析技术.....	17
3.2 材料与方法.....	18
3.2.1 仪器和试剂.....	18
3.2.2 实验内容.....	19
3.3 结果与分析.....	20
3.3.1 提取效果的评价	20
3.3.2 净化方法的评价.....	20

3.3.3 气谱测定.....	19
3.3.4 添加回收实验结果.....	20
第四章 水相中有机氯农药的 SPME 热力学和动力学研究.....	25
4.1 材料与方法.....	25
4.1.1 仪器和试剂.....	25
4.1.2 实验内容.....	25
4.2 结果与分析.....	26
4.2.1 纤维萃取头的选择.....	26
4.2.2 萃取方式的选择.....	27
4.2.3 平衡时间的确定.....	28
4.2.4 盐析效应.....	29
4.2.5 解析条件的优化.....	30
4.2.6 搅拌条件对萃取过程的影响.....	31
第五章 人参中有机氯农药多残留 GC/MS 分析方法的研究.....	33
5.1 材料与方法.....	33
5.1.1 仪器和试剂.....	33
5.1.2 实验内容.....	33
5.2 结果与分析.....	34
5.2.1 SPE 上样溶剂的确定.....	34
5.2.2 SPE 洗脱分布图.....	34
5.2.3 SPME 方法的建立.....	35
5.2.4 气相色谱-质谱条件的选择.....	36
5.2.5 方法检出限.....	40
5.2.6 方法回收率与精密度.....	40
5.2.7 实际样品的分析.....	42
5.3 讨论.....	42
第六章 结论.....	45
参考文献.....	47
致谢.....	51
ABSTRACT.....	53

第一章 引言

1.1 农药残留与农药多残留分析技术

随着人们生活水平和质量的日益提高,有机农业的积极推行,人们对保护生态、重视环境保护的认识日益深刻,人们对食品安全和生存、生长环境的质量越来越加以重视。农药作为一类使用不当会对人类和环境有着严重污染的化合物,已倍加引起全球的广泛关注。21 世纪,将不再强调杀死(-cide)是农药的特征,农药概念的内涵及外延将会发生革命性的变化,农药的新概念将是植物调节剂(Bioregulations),定义应为:“农药是影响、控制和调节各种有害生物(包括植物、动物、微生物)的生长、发育和繁殖的过程,在保障人类健康和合理的生态平衡前提下,使有益生物得到有效保护,有害生物得到较好的抑制,以促进农业现代化向更高层次发展的特殊生物活性物质”。

现在,全球都十分重视环境污染治理、农药残毒监控的问题,世界卫生组织(WHO)对有毒化合物制定了 ADI 值(每人每日最大允许摄入量),联合国粮农组织(FAO)和世界卫生组织及有些国家都制定了相关的各种农药在不同作物上的 MRLs 值(农药最大允许残留限量),用以衡量农产品中农药是否超过标准。农产品中农药残留量不能超过规定的标准,否则就被视为不安全。农药残留量检测方法的可靠性是测定农药残留数据的重要保证。因此,建立农药残留量的检测方法和农药安全使用标准就显得十分必要。

近 10 年来,新型高效农药的不断出现,我国使用的农药品种正在迅速地更新换代。使农药对环境影响及残留农药的检测方法发生了新的变化。因此发展高灵敏度的多残留可靠快捷分析方法已成为环境分析化学及农业化学家的重要战略目标。农药残留量是指农药母体及其代谢物残留量总和,并构成有不同程度的残留毒性者。农药的多残留分析,国外有过不少报道^[1~2]。近年来,国内也进行了这方面的研究^[3~4]。所谓农药的多残留分析是指在一次分析过程中同时测定一种以上的农药残留,它是依靠气相色谱(GC)或高效液相色谱(HPLC)在测定之前将被分析物质彼此分离开,然后逐个进入检测器进行测定而实现的。它分为多类多残留方法和选择性多残留方法。前者是指可同时分析多种不同类型化合物(如包括有机氯、有机磷、拟除虫菊酯等)的方法,而后者指分析一类化合物(如有机氯)的方法。目前应用较多的是美国食品药品监督管理局(FDA)的多残留方法^[5]。FDA的方法部分经过了美国公职分析化学家协会(AOAC)认证,是AOAC的官方分析方法的一部分。我国目前多残留分析大多是利用一根色谱柱将一组农药进行分离和分析。如有机氯、菊酯类农药的多残留分析,多使用气相色谱电子捕获检测器测定;有机磷农药的多残留分析,多使用气相色谱火焰

光度检测器或氮磷检测器测定；均三氮苯类、取代脲类除草剂和灭幼脲类杀虫剂使用高效液相色谱法紫外检测器测定；氨基甲酸酯类农药的多残留分析采用气相色谱法氮磷检测器测定或使用液相色谱柱后衍生化后荧光检测器测定。

对于农药的多残留分析方法，已经取得了重要进展^[6]。除农药母体化合物外，对于毒理学意义的代谢产物的分析更加受到重视，以及最低检出浓度必须低于最大允许残留限量一个数量级等，给残留分析的技术上增加了很大的难度。一些新兴的前处理、分析技术很快被应用于该领域。固相萃取（SPE）^[7]、固相微萃取（SPME）^[8-9]、超临界流体萃取（SFE）^[10]等无溶剂提取技术的使用不仅基本上避免了有机溶剂的使用，而且简单快速，选择性强。在分析测定方面，免疫分析技术在农药残留分析中也有了飞速的发展^[11]。

1.2 人参中农药残留现状及其危害

人参中的农药残留源于在生长过程中为防治虫害、真菌和霉菌对植物的危害，所使用的农药存留在土壤、水、植物后，残留在植物体内。另一类来源是田野间其他农作物施用农药后通过地表径流和淋溶到生态环境、土壤、水中或飘移到大气中，而人参通过根、叶吸收传入体内的农药，统称农药残留^[12]。

70年代是我国使用六六六、滴滴涕的高峰期，人参中残留量较高。1983年我国停止生产并禁用六六六、滴滴涕以来，残留水平逐年下降。但是，由于六六六尚有库存，部分参农仍然使用，导致六六六超标现象严重，而DDT残留量相对较低。人参生产上常用的还有五氯硝基苯、代森锰锌、克百威、百菌清、异菌脲等农药，其中五氯硝基苯超标也十分严重；另外几种农药目前还没有深入开展检测研究工作。六六六、滴滴涕和六氯苯已经被列入中国禁止或严格限制有毒化学品名录。从毒理学研究结果，滴滴涕在生物体内往往会氧化成比原来农药毒性更大代谢产物。因此，长期食用农药残留超标的人参及制品对人体健康构成危害。另一方面，我国出口的人参及其制品的质量也一直受到有机氯农药残留超标的困扰，影响了出口换汇贸易，损害了我国国际声誉。

1.3 常见有机氯农药理化性质及毒理学研究进展

1.3.1 六六六

1.3.1.1 六六六的理化性质

通用名称：六六六(HCH)。商品名称：六氯化苯。化学名称为1, 2, 3, 4, 5, 6-六氯环己烷，分子式： $C_6H_6Cl_6$ 。分子量：288。工业品六六六为白色或淡黄色无定形固体，它是多种异构体的混合物，其结构式见图1.1，其中活性组分 γ -HCH仅占12%~16%，其余均为无效组分。工业品六六六有刺激性臭味，难溶于水，可溶于一般有机溶剂中，在光热、酸性条件下稳定，碱性物质中会发生氯化氢的消除反应。当工业品六六六中 γ -HCH含量达到99%时被称为林丹。林丹能很快排出体外，积蓄体内的危险性很小。工业品六六六由于含有一定量的 β -HCH，使积蓄的可能性及慢性毒性大

为提高, 因此直接使用工业品六六六是不适当的。在我国六六六早已停止使用, 但林丹仍然在生产和限制使用。

1.3.1.2 林丹的毒理学研究进展^[13~18]

1.3.1.2.1 毒性

急性毒性: 林丹的经口和经皮毒性属中等。它在六六六的四种异构体中急性毒性

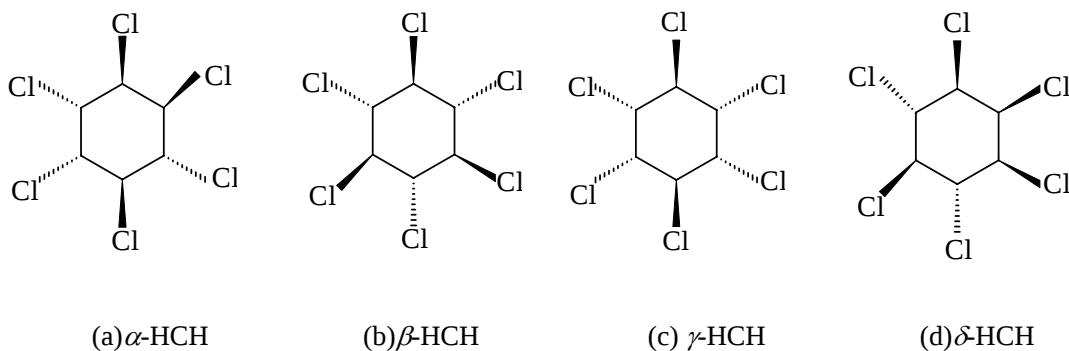


图 1.1 六六六的四种立体异构体化学结构式

Figure 1.1 The four isomers chemical structure of HCH

最大。大鼠经口 LD_{50} 为 88~190mg/kg, 大鼠经皮 LD_{50} 为 500~1000mg/kg。林丹同时对眼和皮肤具有刺激作用。给大鼠一次喂食 120mg/kg 的林丹, 会抑制白细胞攻击和杀死外来细菌的能力。

慢性毒性: 给大鼠以 5mg/kg/d 的剂量喂食 2 年, 发现肝部明显发生变化。长期高剂量喂食供试动物, 发现对肾、胰腺、睾丸和鼻粘膜等处有损伤。林丹的慢性毒性远小于 α -HCH 和 β -HCH。

对生殖的影响: 给大鼠的剂量水平为 10mg/kg/d 持续 138d, 会发现生育力的显著下降, 剂量降至一半则未发现有任何影响。林丹可以刺激雌鼠分泌雌激素, 同时使雄鼠的睾丸发生萎缩。

致畸影响: 给大鼠的剂量水平为 0.5mg/kg/d 持续 4 个月会降低子代的生长。在通常接触剂量条件下, 林丹对人体不会产生致畸影响。

致突变性: 对大鼠和微生物的实验表明, 林丹无致突变性。然而, 在耕作区的林丹浓度为 5~10 mg/kg 时, 发现耕作人群淋巴细胞染色体发生变化。在正常接触剂量水平, 林丹不会对人体产生致突变性。

致癌性: 给大鼠 β -HCH、 γ -HCH 和 δ -HCH 的剂量水平为 64mg/kg/d 时, 未发现肿瘤的产生。当只喂食 α -HCH 时, 伴随有肿瘤的发生。

器官毒性: 林丹会对中枢神经系统、肝、肾、胰腺、睾丸和鼻粘膜产生影响。

在人体和动物体内的归宿: 林丹易通过胃肠系统、皮肤和肺所吸收。其代谢很快, 其途径为逐步脱氯而形成三氯苯酚或与硫酸盐结合而排出。当 HCH 贮存于脂肪中时, 林丹的贮存量远大于其它异构体。在大鼠体内, 2~7d 后林丹会达到贮存平衡。

1.3.1.2.2 生态效应

林丹对鸟类中等毒性，对鱼、水生无脊椎动物和蜜蜂高毒。水的硬度不会改变它的毒性，但温度的升高会影响它对某些生物的毒性。它还具有很强的生物富集作用。

1.3.1.2.3 环境归宿

在土壤和地下水中的降解：林丹在许多土壤中属于高持久性农药，其半衰期大约在 15 个月。它与土壤有很低的亲和力，因此可以在地下水中，也有林丹的检出报道。

在水中的降解：林丹在淡水和咸水环境中都很稳定，很难光解。它可能通过底泥、鱼对它的吸附和生物降解而从水环境中消失。

在植物中的降解：林丹因大量脂类物质的存在而在植物体内显示很强的持久性。它在胡萝卜中的半衰期为 10 周，而在莴苣中的半衰期为 3~4d。

1.3.2 DDT 及其代谢物

1.3.2.1 DDT 及其代谢物的理化性质

通用名称：滴滴涕(DDT)。商品名称：二二三。化学名称：1,1,1-三氯代-2,2'-双(4-氯苯基)乙烷。分子式： $C_{14}H_9Cl_5$ 。分子量：354.49。其结构式见图1.2。原药为无色蜡状固体，无确切熔点，沸点 $185\sim 186^\circ C/6.7Pa$ （分解），蒸汽压 $0.025mPa(20^\circ C)$ ，*pp'*-DDT，几乎不溶于水，易溶于大多数芳香烃和氯代烃溶剂，*pp'*-DDT在碱液中和超过熔点的温度下发生脱氯化氢反应，生成DDE。属于非胆碱酯酶抑制剂，作用于中

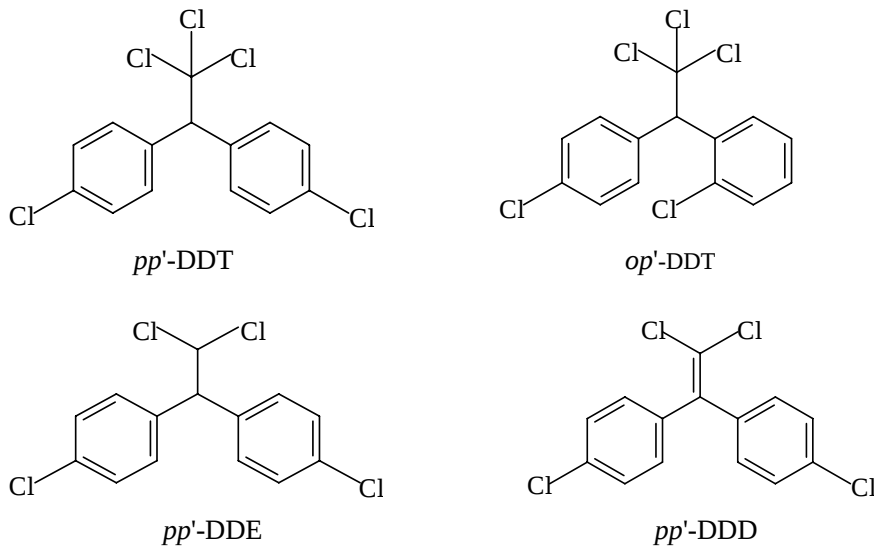


图 1.2 DDT 及其降解物的化学结构式

Figure 1.2 The chemical structure of DDT and its degradation products

枢神经系统神经膜的表面，使离子通透性改变而影响轴突传导，引起兴奋、痉挛、麻痹而致死，还可抑制呼吸酶，诱导神经毒素的产生而使昆虫致死。

1.3.2.2 DDT及其代谢物的毒理学研究进展^[14,18~21]

1.3.2.2.1 毒性

急性毒性：DDT对供试哺乳动物的经口毒性属中毒至低毒。兔的经口LD₅₀为400mg/kg。DDT易通过胃肠系统所吸收，尤其是在脂肪大量存在的情况下。DDT的经皮毒性很低，甚至基本无毒，雌兔的经皮LD₅₀为2500~3000mg/kg。

慢性毒性：DDT对神经系统、肝、肾和免疫系统存在慢性毒性。以剂量16~32mg/kg/d喂食大鼠26周以上，发现身体的颤抖。对肝的主要影响是局部的肝损伤。以138.5mg/kg/d的剂量喂食狗10d以上会导致肾上腺出血。

对生殖的影响：给妊娠15~19d的大鼠剂量为38mg/kg/d的水平，没有发现对繁殖产生影响。但给大鼠的DDT剂量水平7.5mg/kg/d长达36周时，会导致其不孕。这种影响来源于DDT对内分泌系统所产生的破坏。

致畸影响：在大鼠两代的繁殖实验中，10mg/kg/d的剂量水平会导致尾部发育的异常。通过人体通常的可能接触途径，DDT不会对人体有致畸性。

致突变性：在由于工作原因与DDT经常接触的人群中，发现血细胞内染色体的损伤。DDT具有对人体产生基因毒性作用的危险，但不会发生明显的突变。

致癌性：对大鼠以12.5mg/kg/d的水平喂食78周以上，会诱导肝部肿瘤的产生。如果人体长期、高剂量的接触DDT，会导致胰腺癌。

器官毒性：DDT对神经系统、肝和肾会产生不良影响，对肺和肝会产生肿瘤。

在人体和动物体内的归宿：DDT在动物体内最初降解为更易贮藏在脂肪组织中的DDE和DDD。它们最终以很慢的速度通过其他代谢途径转化为DDA，随尿排出。

1.3.2.2.2 生态效应

DDT对鸟类低毒，对许多水生无脊椎生物和鱼类高毒，对蜜蜂无毒。在鱼类和其它水生生物中具有强烈的生物富集作用。其生物富集因子为1000~1000000。

1.3.2.2.3 环境归宿

在土壤和地下水中的降解：DDT在土壤中半衰期为2~15年。其损失和降解途径包括地表径流、蒸发、光解和生物降解。

在地表水中的降解：DDT在湖水中的半衰期为56d，在河水中半衰期为28d。主要损失途径为蒸发、光解和吸附于水中悬浮物和底泥中。

在植物中的降解：DDT不会大量存在于植物体内，只有微量代谢物被检出。

1.3.3 百菌清

1.3.3.1 百菌清的理化性质

通用名称：百菌清(chlorothalonil)。商品名称：Daconil 2787。化学名称：2,4,5,6-四氯-1,3-苯二甲腈。分子式：C₈Cl₄N₂。分子量：265.91。其结构式见图1.3。百菌清是一种无色无味晶体，水中溶解度为0.9mg/L(25℃)，热稳定性取决于周围温度，对紫外光稳定(水介质和晶体状态)，在酸性和微碱性溶液中稳定，pH=9时慢慢水解。它是一种保护性杀菌剂，能与真菌细胞中的3-磷酸甘油醛脱氢酶中的半胱氨酸的蛋白质结合，破坏细胞的新陈代谢而使病原菌丧失生命力。其主要作用是预防真菌浸染，没有内吸传导作用，但在植物表面有良好的粘着性，不易受雨水冲刷，有较长的药效期。

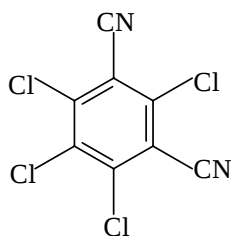


图 1.3 百菌清的化学结构式

Figure 1.3 The chemical structure of chlorothalonil

1.3.3.2 百菌清的毒理学研究进展^[13,15,17,22~24]

1.3.3.2.1 毒性

急性毒性：百菌清对哺乳动物低毒,对眼睛、皮肤有强烈刺激。高剂量会引起肌肉协调性的下降和呼吸急促甚至死亡。大鼠的经口和经皮LD₅₀值都为 10000mg/kg。

慢性毒性：对大鼠喂食不同剂量,没有发现其对生理外形、行为和存活方面有任何影响。人体接触 0.5%的剂量会导致皮肤炎和下眼皮的肿胀和发炎。

对生殖的影响：给孕兔喂食高剂量百菌清会造成流产。目前研究证明,百菌清在通常接触剂量条件下,不会对人类的繁殖产生影响。

致畸影响：即使对雌鼠喂食具有毒性的剂量,也会产下正常的幼鼠。它对人类也不会导致出生缺陷。

致突变性：它对人类以及多种动物、细菌和植物没有产生基因变异的可能。

致癌性：给大鼠喂食高剂量百菌清 2 年,发现雌鼠在胃部有肿瘤产生,雄鼠在肾脏处有良性瘤产生。

器官毒性：高剂量百菌清使肾脏体积增大,同时使尿液排出量减少。

在人体和动物体内的归宿：百菌清能够不经任何变化很快排出体外。给兔和狗持续喂食高剂量水平,最终都以尿、粪和呼出气体的形式排出。

1.3.3.2.2 生态效应

百菌清对鸟类和蜜蜂无毒,但它及其代谢物对鱼、水生无脊椎动物和海洋微生物高毒。它不存在于生物体的脂肪内,而是快速排出到体外。其生物富集作用不显著。

1.3.3.2.3 环境归宿

在土壤和地下水中的降解：百菌清是中等持久性农药。在需氧条件下,它的半衰期为 1~3 个月。土壤湿度和温度的提高会加快它的降解。在土壤表面不会因阳光的作用而降解。在许多地下水采样点,未有百菌清的检出。

在水中的降解：在碱性条件下 (pH=9), 10 周以后大约有 65%的百菌清发生降解。

在植物中的降解：百菌清在植物体内属轻微持久性农药。在收获的作物里,有微量代谢物检出。

1.3.4 六氯苯

1.3.4.1 六氯苯的理化性质

通用名称：六氯苯(hexachlorobenzene,HCB)。化学名称：六氯苯。分子式： C_6Cl_6 。分子量：284.78。其结构式见图 1.4。六氯苯是无色晶体，几乎不溶于水，溶于热苯、氯仿，极稳定，在酸碱环境中也很稳定。属于有机氯杀菌剂，主要用于小麦，大麦等谷类作物种子外膜防治真菌危害。

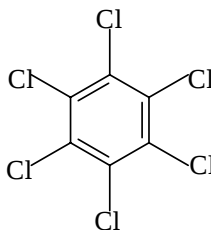


图 1.4 六氯苯的化学结构式

Figure 1.4 The chemical structure of HCB

1.3.4.2 六氯苯的毒理学研究进展^[15,17,22,25~26]

1.3.4.2.1 毒性

急性毒性：六氯苯具有低或较低的急性毒性作用。经口毒性属于低等毒性范围，兔的经口 LD_{50} 值为 3500mg/kg。它对皮肤可能具有一定的刺激作用。它还具有低度至中度吸入毒性，兔的吸入 LC_{50} 值为 3.6mg/L，大鼠的吸入 LC_{50} 值为 4mg/L。

慢性毒性：六氯苯具有慢性或亚慢性毒性作用。以剂量在 50mg/kg/d 的水平连续喂食大鼠四个月，最终会导致 95%雌鼠和 30%雄鼠的死亡。六氯苯已成为全球性的环境污染物，目前被列入环境内分泌干扰物（Environmental Endocrine Disruptors, 简称 EEDs），其健康危害已越来越引起广泛的重视。

对生殖的影响：给兔的剂量保持在 10mg/kg/d 水平时没有发现死亡率或流产率的增加。对兔的四代繁殖研究证明，喂食剂量在大约 8mg/kg/d 水平可以降低其生育能力。当人体以正常剂量接触六氯苯时不会产生对繁殖的影响。

致畸影响：给妊娠 7~16d 的孕鼠喂食剂量 100mg/kg/d 时，可以观察到子鼠上鄂开裂和肾脏的畸形。在通常的接触剂量范围内，六氯苯对人体的致畸性可能很小。

致突变性：从现有的资料来看，六氯苯很可能无致突变性。

致癌性：以 4mg/kg/d 的剂量长期喂食实验动物，会发现六氯苯将导致肿瘤数量的增加。其中以发生在肺、甲状腺、肝和脾的部位为甚。人体以正常剂量接触六氯苯是否会有致癌作用，目前还没有结论。

器官毒性：由六氯苯产生影响的器官有肺、肾、肝和脾，还有神经系统。

在人体和动物体内的归宿：六氯苯经口进入动物体内以后，被胃肠系统吸收的能力随所用溶剂的不同而变化。吸收以后，六氯苯可以在肝脏内降解为五氯苯酚和其他易溶于水的物质而随尿排除，或随胆汁流入小肠，也可以通过淋巴系统被吸收，不经

肝脏的转化而直接储藏在脂肪中。其在脂肪中的移动随着蛋白质摄入的减少而加剧。

1.3.4.2.2 生态效应:

六氯苯对鸟类和鱼类的毒性属于低度至中度范围。六氯苯具有很强的生物富集作用,藻类对六氯苯的生物富集率为 570。六氯苯在生物体内通常是以母体形式被检出,这表明其降解率很低。

1.3.4.2.3 环境归宿:

在土壤和地下水中的降解:六氯苯是难降解物质,土壤环境半衰期为 2.7~7.5 年。六氯苯在土壤表面蒸发速度很快,但六氯苯混入土壤后蒸发缓慢。六氯苯可以被多数土壤类型所强烈吸附,易被吸附于土壤及沉积层。在有氧和无氧条件下都可以进行降解。六氯苯也会对地下水产生污染,在井水中已经有六氯苯的检出。

在水中的降解:六氯苯在水体环境中会经历很快和很彻底的降解(小于 5d 的时间)。它会在有氧和无氧条件下降解为五氯苯酚和其它化合物。水中的光解作用缓慢。

在植物中的降解:六氯苯在植物体内的降解很快。施用 15d 后,在杂草中的残留水平为原始沉积量的 1%;19 个月后,残留水平为原始沉积量的 0.01%。

1.3.5 五氯硝基苯

1.3.5.1 五氯硝基苯的理化性质

通用名称:五氯硝基苯(quintozene)。商品名称:土壤散,PCNB。化学名称:五氯代硝基苯 Pentachloronitrobenzene,分子量:293,结构式见图1.5。五氯硝基苯

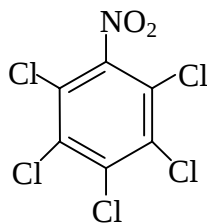


图1.5 五氯硝基苯的化学结构式

Figure.1.5 The chemical structure of quintozene

是无色针状体,原药为浅黄色结晶,蒸汽压 12.7mPa(25℃),中溶解度 0.1mg/L(20℃),加热稳定,酸性介质中稳定,碱性介质中水解,暴露于日光下 10h 后有些表面变色。五氯硝基苯是保护性杀菌剂,无内吸性,用作土壤处理和种子消毒。对丝核菌引起的病害有较好的防效,对甘蓝根肿病、多种作物白绢病等也有效。其杀菌机制被认为是影响菌丝细胞的有丝分裂。

1.3.5.2 五氯硝基苯的毒理学研究进展^[15~17,22,27]

1.3.5.2.1 毒性

急性毒性:五氯硝基苯具有轻微的经口、经皮和吸入毒性。雄鼠的经口LD₅₀为 1710mg/kg。给狗一次喂食剂量为 2500mg/kg不会致死。4h吸入LC₅₀为 6.49mg/L。大鼠经皮LD₅₀为 2000~4000mg/kg。它对眼、皮肤具有潜在的刺激作用。

慢性毒性：给大鼠剂量为 275mg/kg/d 持续 3 个月会降低体重和生长速率。给狗剂量为 20mg/kg/d，未发现对生长的影响，但肝部有轻微的肿大。

对生殖的影响：对大鼠三代繁殖实验表明，剂量为 25mg/kg/d 不会对繁殖产生影响。其它相关实验也表明，五氯硝基苯对繁殖不会产生影响。

致畸影响：给妊娠 6~15d 的大鼠以剂量为 125mg/kg/d 的水平，未发现内脏和骨骼的异常。其它实验同时表明，五氯硝基苯无致畸性。

致突变性：五氯硝基苯没有或轻微具有致突变性。

致癌性：给大鼠最大允许剂量 464mg/kg/d 持续 7~28d，会导致肝部肿瘤的生长。目前还没有确切证据表明五氯硝基苯具有潜在的致癌性。

器官毒性：由五氯硝基苯产生慢性作用的器官是肝。产生急性作用的主要是循环系统中的红细胞和血红蛋白。

在人体和动物体内的归宿：五氯硝基苯易被胃肠系统所吸收，并很快排出体外。它的主要代谢产物为五氯苯胺、五氯苯酚和五氯苯甲醚，它们都可能贮存与体内脂肪中。

1.3.5.2.2 生态效应

五氯硝基苯对鸟类和蜜蜂无毒，对鱼类高毒。它在水生动植物体内有所富集。

1.3.5.2.3 环境归宿

在土壤和地下水中的降解：五氯硝基苯在环境中的持久性差异很大，土壤半衰期从少于三周到几年以上。主要代谢产物包括五氯苯胺、五氯苯、六氯苯和五氯硫代苯甲醚。五氯硝基苯主要通过蒸发和生物转化而消失。在有氧条件下，细菌对五氯硝基苯进行生物降解。

在水中的降解：五氯硝基苯不易光解，酸性和中性溶液中稳定。水中半衰期 1.8~5d。

在植物中的降解：植物体内的主要代谢产物为五氯苯胺和甲基硫五氯苯。

上述 11 种有机氯农药的化学结构相似，水溶性极差，在有机溶剂中的溶解度普遍升高。正是由于这些理化性质上的相似之处导致了它们在前处理过程中，表现出许多相似的行为，从而使采用一种方法同时处理人参样品中这 11 种残留物成为可能。另外，六六六、滴滴涕和六氯苯的持久性都很高，属于难降解化合物，它们会在人参体内长期存在，开展对它们的监测势必对提高人参的质量产生积极影响。

从毒理学角度来看，以上有机氯化合物的急性毒性都不是很高，但值得注意的是，六六六、滴滴涕和六氯苯的慢性毒性都十分显著，人体长期的接触和摄入会造成对健康的严重影响，这也是开展对有机氯农药残留监测的必要性之一。

第二章 SPE、SPME 和 SWE 技术

2.1 SPE 技术

2.1.1 SPE 基本理论

SPE 实际上是色谱技术在样品净化、富集方面的一种专门应用形式。SPE 柱(见图 2.1)可以分为正相、反相、离子交换和吸附剂四种类型。在聚四氟乙烯塑料微型柱管中装入多孔固体介质,并在上面键合特定的有机相。当试样流经时,待测物被有机相吸附,清洗杂质后再用少量洗脱液将其洗脱。使用时根据样品的理化性质来选择合适的萃取柱和洗脱液。在净化中主要是采用保留欲测定组分、将干扰共提取物洗脱除去或与之相反这两种方式。操作时将样品液以适当速度通过萃取柱,用水或有机溶剂进行洗脱,以除去干扰共提取物,由于待测物在洗脱液中的浓度通常高于原溶液,所以在净化的同时也达到了对样品进行富集的目的。但是现在普遍应用的柱形 SPE 的最大缺点是截面积小,流量低,因而处理液体样品的时间长;其次容易堵塞,尤其是对环境及生物样品更易产生缝隙,降低萃取效率。近年来新型的薄膜 SPE 具有截面积大,不易堵塞,可用高流量,处理时间短等特点,因而有逐渐代替柱形 SPE 的趋势。



图 2.1 柱形 SPE

Figure 2.1 SPE Cartridge

本实验采用反相 SPE 柱作为样品净化手段。它具有非极性的固定相,其使用原则为从极性或中等极性的样品基体(流动相)中净化弱极性至非极性的分析物。基体中有机化合物在柱上的保留主要依靠有机物的碳-氢键与二氧化硅表面的官能团之间的相互吸引力。发生在这种非极性-非极性之间的作用力主要是范氏引力和分散力。因此,为能使这些有机物有效洗脱,应该采用非极性的溶剂来破坏有机物与填料之间的作用力。但由于所有的反相 SPE 键合固定相都有一定比例的未反应的硅醇基团,所以会发生一些极性的次要作用(secondary interaction)。在用一种非极性的洗脱溶剂没能有效地洗脱分析物时,可以考虑在原来的洗脱溶剂中加入一定比例的适当极性的溶剂来洗脱由于次要作用而仍然保留在 SPE 柱上的分析物。同时,这种次要作用对保留极性杂质而使分析物得到净化具有一定作用。

2.1.2 SPE 在农药残留分析中应用

SPE已在农药的多残留测定中广泛应用,它甚至可以从水果中一次性提取 200 种农药。Shepherd等用 C_{18} 柱萃取水中莠去津,用 1.5h可以处理 12 个样品,检出灵敏度可达 0.05ng/mL ^[28]。Holland等用 C_{18} 柱筛选葡萄酒中 74 种农药,方法快速,重复性好^[29]。对于固体样品,SPE主要用于净化,提取仍需溶剂提取。根据需要净化时可以采用单柱或串联柱。Schenck等用 C_{18} 和弗罗里硅土SPE柱串联,净化鸡蛋中有机氯及有机磷的乙腈提取液,以GC/ECD/FPD测定,可减少 90%的溶剂消耗和 85%的废液处理^[30]。

2.2 SPME 技术

固相微萃取技术是在常规固相萃取基础上发展起来的,由加拿大 Waterloo 大学的 Pawliszyn 等首创。它已被成功地用于气体样品、水样及土壤、软泥等固体样品的分析上。它作为样品前处理技术,集提取、净化、浓缩步骤于一身,减少了样品前处理过程中步骤繁琐所带来的麻烦和分析所用时间。

2.2.1 SPME 装置:

SPME 是类似于注射器形状的柱形装置(见图 2.2)。涂有聚合物固定相的熔融石英纤维被安装在这套装置的“针头”内。固定相是 SPME 的核心工作部位。至 1996 年秋,美国 Supelco 公司已经制造出专用于 SPME 的纤维萃取头,包括较为常用的聚二甲基硅酮(PDMS,厚度分别为 $100\mu\text{m}$ 、 $30\mu\text{m}$ 、 $7\mu\text{m}$)和聚丙烯酸酯(PA,厚度为 $85\mu\text{m}$)。SPME 整个装置的顶部有一个柱塞,柱塞的推进与拉出控制着石英纤维在“针头”内的进出。推进柱塞使柱塞下部与之相连的螺丝卡在柱体侧壁上的 Z 形狭槽的拐弯处,就可以使石英纤维从“针头”中暴露出来,从而使涂于石英纤维上的固定相对样品进行处理。“针头”部位还有一个可调的针头插入深度计量器。通过它的调整,可以使石英纤维在气相色谱进样口处插入任何一个深度,从而优化解析条件,达到最佳解析效果。



图 2.2 SPME 手柄和纤维头

Figure 2.2 SPME Holders and Fibers

2.2.2 SPME 工作原理

2.2.2.1 SPME 工作一般过程

SPME 是基于待测组分在固定于熔融石英纤维上的固定相和样品基体(如空气、水等)之间的分配而建立起来的。首先将石英纤维暴露出来,浸于样品溶液中或停留在样品的顶空部位,样品中的有机物通过扩散被吸附在石英纤维的有机固定相内。当达到吸附平衡或经过一段优化好的萃取时间后,被吸附的待测组分在气谱进样口处热解析或样品进行液谱分析时,通过在有机溶剂中再溶解而进入色谱进行分析。

2.2.2.2 SPME 热力学

SPME是一个多相平衡过程^[32]。一般来讲,整个萃取系统的组成十分复杂。例如,液体样品中含有与待测组分可能产生各种吸附的固体悬浮颗粒,还存在气体顶空。为了简化这个系统,一般只考虑三相:石英纤维上的有机物固定相、气相或顶空、均匀的样品基体。在萃取过程中,待测组分在这三相中转移直至达到平衡。

被聚合物固定相萃取的待测组分的量与待测组分在这三相中的平衡有关。由于在整个萃取过程中,待测组分的总量不会变化,所以有 $C_0V_s = C_f^{\infty}V_f + C_h^{\infty}V_h + C_s^{\infty}V_s$ 。其中 C_0 、 C_f^{∞} 、 C_h^{∞} 、 C_s^{∞} 分别为基体中待测组分的原始浓度、待测组分在萃取达到平衡时于纤维固定相、顶空、样品基体中的浓度, V_s 、 V_f 、 V_h 分别为样品、纤维中固定相、顶空的体积。在平衡状态下,待测组分在三相中的化学势相等,从而导出待测组分在三相中蒸气压相等,如果定义待测组分在固定相/气体分配系数为 $K_{fh} = C_f^{\infty}/C_h^{\infty}$,气体/样品基体分配系数为 $K_{hs} = C_h^{\infty}/C_s^{\infty}$,固定相/样品基体分配系数 $K_{fs} = C_f^{\infty}/C_s^{\infty}$,由亨利定律和理想气体状态方程,可以得到 $K_{fs} = K_{fh}K_{hs}$ 。由此被固定相萃取的待测组分的量 $n = C_f^{\infty}V_f$ 可以表述为^[33]:

$$n = \frac{K_{fs}V_fC_0V_s}{K_{fs}V_f + K_{hs}V_h + V_s}$$

方程式中的分母有三项。如果假定样品瓶中充满样品溶液,没有顶空,分母中的 $K_{hs}V_h$ 项就可省略掉,从而导出^[33]:

$$n = \frac{K_{fs}V_fC_0V_s}{K_{fs}V_f + V_s}$$

当 $V_s \gg K_{fs}V_f$ 时,公式可以写为: $n = K_{fs}V_fC_0$ 。由此可以看出,萃取量与样品体积无关。因而在样品溶液中待测组分的浓度与纤维固定液上的萃取量之间存在线性关系。

2.2.2.3 SPME 动力学

萃取过程的动力学决定着萃取速度。在静态条件下的萃取,待测组分的转移受在水相中和在纤维表面的水层的扩散所控制^[34]。在这个水层中,浓度的变化率呈下降趋势,因此减少了通往纤维表面的待测组分的流量。在动态条件下(充分搅拌样品溶液),这个水层依然存在于纤维表面,使得最终的平衡时间由通过水层的扩散所决定。然而搅拌使溶液中的待测组分分子都很容易地靠近纤维表面,被固定相所吸附,因此达到平衡的时间明显低于相同条件下的静态萃取。例如,具有很高 K_{fs} 值的对硫磷来说,在搅拌和不搅拌两种条件下达到平衡的时间分别为 35min 和 2h^[35]。纤维表面的水层被称为 Prandtl 边界层^[4]。它的厚度取决于搅拌速度和流体的表面张力。因此,搅拌方法在降低决定物质转移至纤维表面的水层的厚度上显得尤为重要。它也因此决定着达到平衡的时间的长短。

在解析过程中,待测组分从固定相转移至载气流中(GC)或溶剂流体中(HPLC)。解析过程恰好与吸附过程相反。流体(载气和溶剂)中待测组分的最初浓度应为 0,

然后应使吸附于固定相内的待测组分瞬间转移至流体中。在这个过程中，流体保持很高的线速度是十分必要的。在实际工作中，可以通过在气谱的进样口处安装一个窄径内衬管或在高效液相色谱的进样阀内装入一个窄径管来实现以上要求。

2.2.3 萃取模式

固相微萃取有三种萃取模式：直接萃取、顶空萃取、膜保护萃取。根据样品基体、待测组分挥发性和对基体的亲和性来选择适当的萃取模式。对于挥发性很强的物质，顶空萃取能够达到很好的效果，而且达到平衡的时间也很短。对于比较干净的样品如地下水，常采用直接萃取，特别是萃取中等极性和非极性的物质。对于很脏的样品，为了保证纤维头上的固定相免受污染，采用膜保护萃取方式。

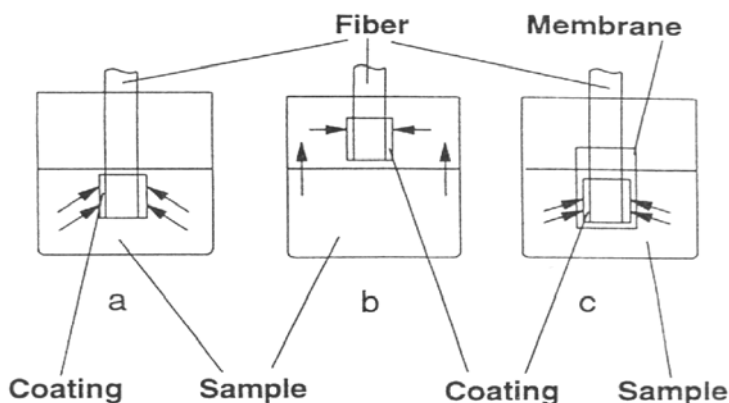


图 2.3 固相微萃取的三种操作模式: (a) 直接萃取 (b) 顶空萃取 (c) 膜保护萃取

Figure 2.3 Three Modes of SPME operation

(a)direct extraction(b)headspace extraction(c)membrane-protected extraction

2.2.4 SPME - SWE 技术

由于亚临界水（也称为高温液态水）具有从固体和半固体中定量提取极性和非极性有机物的能力，现在致力于将这两种方法结合，并已展开了研究，其设备见图 2.4。水是一种极性物质，它能够在足够大的压力(相对温和)以保持它为液态的前提下，随温度的升高而显现出极性的显著降低，这是由于水的介电常数随温度的升高而显著降低的缘故。例如室温下水的介电常数为 80，在 250℃时降至 30。此时将这种水称为亚临界水（subcritical water）或高温液态水(hot liquid water)。以此建立的萃取方法称为亚临界水萃取（subcritical water extraction,SWE）^[36]。这种高温水可以溶解甚至是非极性的物质，例如多环芳烃。正是利用了它的这个性质，才使得它可以与SPME联用共同提取分析物质。利用相似相溶原理，水可以在低温、极性高时萃取极性有机物，高温、极性低时萃取中等极性至非极性的有机物，这被称为分类选择性萃取（class-selective extraction）^[37]。与SFE相比，这个方法对极性和非极性有机物的萃取

主要与萃取温度有关，在对压力的要求上只要保持水呈液态即可。例如在一项测定土中苯酚、BTEX、PAHs和酰胺的实验中，水在低温时(50~150℃)提取出了苯酚和BTEX。升温至 250~300℃时，PAHs被有效地提取，此时再使压力保持在 0.5MPa，酰胺就被提取出来。

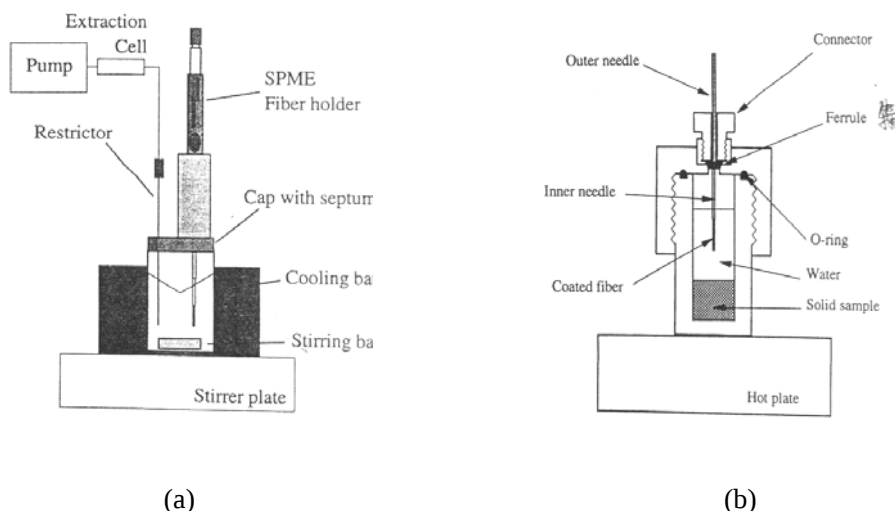


图 2.4 亚临界水/固相微萃取体系:(a)动态法;(b)静态法
Figure 2.4 Subcritical Water Extraction/SPME system
(a) dynamic (b) static

2.2.5 SPME 方法的建立

温度既影响着方法的灵敏度，同时也对萃取的动力学产生影响。萃取温度的升高会导致萃取量的增加，但同时会降低待测组分的分配系数。一般来讲，如果在萃取过程中，萃取速率是主要考虑因素，那末就应该采用能够提供满意灵敏度的最高温度作为萃取温度。经过改造的内部冷却固相微萃取装置能够消除灵敏度由于萃取温度过高而造成的损失。盐（如NaCl、Na₂SO₄）的加入会增加或降低萃取量，这主要取决于待测组分本身的性质和加入盐的量。一般地，萃取量随着盐加入量的增加而增加，随着待测组分极性的增大而增加。调整溶液的pH 值能够提高萃取酸性和碱性待测组分的灵敏度。pH值的一般变化范围为 2~10。如果有酸性或碱性样品存在于样品中，应当加入适当的缓冲剂以确保萃取过程的重现性。另外，搅拌技术的应用也能影响到萃取的效率。在磁力搅拌过程中，应当注意要使磁力搅拌棒的旋转速度始终保持一致，并且样品瓶与搅拌器托盘无热传递。

如 2.2.2.3 所述，在 SPME 解析过程中，为防止色谱峰拖尾，应使待测组分迅速从进样器处解析。因此需要能产生很高线速载气的内衬管。这种内衬管的内径尽可能地

与纤维头的外径相接近。Supelco 公司目前已经制造出在 GC 上使用的内径为 0.8mm 的内衬管。另外, 还应注意的问题是, 当针头插入气谱进样口以后, 吸附在固定相内的待测组分已经开始解析, 因此, 应当在针头进入进样口后, 迅速按下柱塞, 否则纤维未被暴露之前就被解析下来的待测组分滞留于针头内部, 会使色谱峰变宽, 甚至出现色谱峰重叠。

衍生化方法也可以用于 SPME。在 SPME 中, 有三种样品衍生化方法: 一是在样品中通过加入合适的衍生化试剂使待测组分得以衍生; 二是在 SPME 纤维固定相上进行衍生, 即纤维头上涂布合适的衍生化试剂。这种方法还分为萃取的同时进行衍生和萃取之后进行衍生两种形式; 三是在气谱进样口处进行衍生。无论采用哪种方式, 衍生化试剂的选择都是最为关键的。

2.2.6 SPME在农药残留分析上的应用^[38~41]

SPME 的一项主要应用就是农药的多残留测定, 这方面的工作已开展了很多。现在较多的是集中在对水样中农药的测定, 如测定水样中有机氯农药残留、水样中有机磷农药残留、水样中含硝基农药残留等, 还有同时测定水样中浓度在 0.1~100 $\mu\text{g/L}$ 范围内的三大化学类别的 60 种农药, 其检测限都达到了 ng/L 水平, 甚至更低。在用 SPME 与 GC-MS 同时分析有机氮和有机磷农药残留时, 在 SIM 方式下其检测限达到了 5~90ng/L, 方法在至少三个数量级范围内呈线性, 相关系数 ≥ 0.996 , 变异系数 $< 10\%$, 而对固体样品特别是类似于人参这样的生物性固体样品的研究, 还未见报道。

第三章 人参中有机氯农药残留传统分析技术

3.1 有机氯农药残留分析技术概述

有机氯类农药(OCPs)化学性质稳定,脂溶性大,残效期长,易在脂肪组织中蓄积,造成慢性中毒,严重危及人体健康,因此迫切需要建立一套准确可靠、简便快速的测定方法来开展监测。由于中成药成分复杂,许多成分的化学结构、理化性质等跟农药极为相似,且剂型多样,使得其中 OCPs 的分离、净化、富集的难度加大。

3.1.1 提取

有机氯农药的提取方法一般有振荡法、索氏提取法、超声波法和液-液分配法等。目前应用较多的有振荡法、组织捣碎法、超声法,其中振荡法和超声法更为常见。提取剂的选择,应视样品的性质和有机氯农药的性质及其在生物体内存在的形式的不同而不同。最常用的混合溶剂有正己烷(或石油醚)-丙酮,乙腈-水,正己烷(或石油醚)-乙醚等。其中提取效果以乙腈和乙腈-水(视样品中含糖量和含水量的不同,在乙腈中加入一定比例的水)为最佳,因此, AOAC 法采用它作为提取剂。但由于乙腈属于极性溶剂,通常需要把提取液通过液-液分配法,使其中的有机氯农药转移至非极性溶剂石油醚或正己烷中,以免极性溶剂影响净化或检测等操作步骤。

3.1.2 净化

在净化方面,有机氯农药,除少数外,大都对酸是稳定的,因此可用磺化法进行净化。它的原理是提取液中的油脂、色素等物质,遇到浓硫酸就磺化成极性较大且易溶于水的化合物,从而与有机层分离而除去。此外也常用柱层析法。吸附剂主要用弗罗里硅土或氧化铝。弗罗里硅土吸附油脂的能力比氧化铝还好。在进行多种有机氯农药的残留量测定时,可通过弗罗里硅土柱,利用淋洗出农药的先后顺序的不同,或采用不同的淋洗剂,将农药分组,而便于进一步检测。所以弗罗里硅土是有机氯农药残留量测定中最常用的净化吸附剂。除此以外,还有液-液分配法、皂化法、吹蒸法、凝胶渗透层析法。

3.1.3 定量分析方法

有机氯农药的检测方法有气相色谱法、薄层色谱法、高效液相色谱法等。其中带电子捕获检测器的气相色谱法应用最广,此法灵敏度很高,如 γ -HCH的最小检出量可达 10^{-12} g。

3.1.4 人参及其他中草药中有机氯农药残留分析技术

国内关于人参及其他中草药中有机氯农药残留测定,已有许多报道。我国已确定了一套标准方法用于测定人参中有机氯农药残留量。索氏提取法和超声波提取法在精

密度与准确度上均符合农药残留分析方法要求。但无论哪种提取方法都需耗费大量有机溶剂，给分析工作者和环境带来潜在危害。而且索氏法提取耗时较长（需 8h）。两种方法与其它传统方法共同的弊病在于选择性差，即提取时带进大量共提物，还需分离净化，同时步骤繁琐所带来的样品组分的损失也是不容忽视的问题。净化采用磺化法或柱层析法，其中多采用磺化法。该法的弊病还在于浓硫酸的使用会造成不安全的隐患。

表 3.1 人参中有机氯农药残留研究状况
Table 3.1 Status of determination for OCPs in Panax Ginseng

农药	提取		净化	检测	参考文献
	提取溶剂	提取方法			
HCH	丙酮-水	索氏提取	液液分配，正己烷	GC-ECD	42
HCH	丙酮	回流	液液分配，氯仿	TLC	43
HCH	石油醚-丙酮	浸渍	磺化	GC-ECD	44
Quintozene	石油醚-丙酮	索氏提取	磺化	GC-ECD	45
HCH DDT	正己烷-丙酮	振荡	磺化	GC-ECD	46
HCH DDT	正己烷-丙酮	浸渍	柱层析 (Celite545) 洗脱液：正己烷	GC-ECD	47
HCH DDT	苯	搅拌	磺化	TLC	48
HCH DDT	丙酮-水- 二氯甲烷	超声	磺化	GC-ECD	49, 50
HCH DDT	石油醚	振荡	磺化	GC-ECD	51
HCH DDT	丙酮-水	振荡	柱层析 (Florisil), 洗脱液：正己烷-乙醚	GC-ECD	52
HCH DDT	石油醚	超声	磺化	GC-ECD	53
HCH Quintozene	正己烷-丙酮	浸泡、 超声	磺化	GC-ECD	54
HCH DDT Quintozene	石油醚-丙酮	索氏提取	磺化	GC-ECD	55
Chlorothalonil	丙酮	超声	柱层析 (硅胶) 洗脱液：正己烷-丙酮	GC-ECD	56
Chlorothalonil	酸性丙酮	萃取	柱层析 (Florisil),	GC-ECD	57

3.2 材料与方 法

3.2.1 仪器和试剂

3.2.1.1 仪器

日本Shimadzu GC-9A 气相色谱仪（附⁶³Ni电子捕获检测器，日本Shimadzu公司C-R4A数据处理机）

KQ-250 超声波清洗器；

2FA-III型真空旋转浓缩器（上海）

恒温水浴

3.2.1.2 试剂

农药标准品 α -HCH, β -HCH, γ -HCH, δ -HCH, *op'*-DDT, *pp'*-DDT, *pp'*-DDD (国家标准物质中心), *pp'*-DDE(DIKMA 公司, 加拿大), 五氯硝基苯、六氯苯、百菌清（吉林农业大学测试中心），内标物：环氧七氯（HEPCIO）；

石油醚（60~90℃，30~60℃，分析纯）；丙酮（分析纯）；无水硫酸钠（分析纯）；浓H₂SO₄（分析纯）；乙腈（色谱纯）；正己烷（分析纯）；二次蒸馏水。

3.2.2 实验内容

3.2.2.1 测定条件

中国科学院大连化学物理研究所国家色谱分析研究中心 OV-1701 弹性石英毛细管柱 30m×0.32mm×0.5μm）；

载气为氢气，柱前压 0.1MPa；

补充气为高纯氮 99.999%。流量 20mL/min；

气化温度 300℃，检测温度 300℃，

升温程序为：70℃（1min） $\xrightarrow{25^\circ\text{C}/\text{min}}$ 180℃(15min) $\xrightarrow{5^\circ\text{C}/\text{min}}$ 275℃(10min)。

进样量：1μL，内标法定量

3.2.2.2 索氏提取-磺化法实验步骤

1 取人参样品粉碎过 60 目筛，准确称取 2g 粉末，用滤纸包裹，置于索氏提取器中。5 次重复。

2 用丙酮-石油醚（60℃~90℃）=1：4（V/V）提取液浸泡过夜，然后回馏提取 8h。

3 将提取液倒入 250mL 分液漏斗中，用 15mL 石油醚分三次洗涤蒸馏瓶，合并洗涤液于分液漏斗中，加入 2%硫酸钠水溶液 20mL，振摇，静置分层后，弃去水层。

4 在提取液中倒入 10mL 浓硫酸，振摇并不断排气，待静止分层后弃去下层硫酸液，按此步骤再分别加入 5mL 浓硫酸净化两次，直至硫酸层无色或呈淡黄色。

5 每次用 20mL 2%的硫酸钠溶液洗去有机相中的硫酸，共洗涤三次，然后用 2~3g 无水硫酸钠脱去残留的水，将滤液转入浓缩瓶中，并用少量多次石油醚洗涤分液漏斗，一起合并至浓缩瓶中。旋转浓缩滤液，使之小于 1mL，再用石油醚定容至 1mL，同时向瓶内加入与标准溶液相同量的内标物环氧七氯（15~25ng）。

6 用进样器吸 1μL 定容液上机检测。

3.2.2.3 超声波提取-磺化法实验步骤

1 准确称取 2g 人参粉末，置于具塞锥形瓶中。5 次重复。

2 用丙酮-石油醚（60℃~90℃）=1：4（V/V）作为提取液在超声波发生器中提取

三次(20, 10, 10mL), 每次 30min, 抽滤。用 15mL 石油醚分三次洗涤锥形瓶, 合并滤液置分液漏斗中。

其余步骤同 3.2.2.2。

3.3 结果与分析

3.3.1 提取效果的评价

表 3.2 和 3.3 的结果表明, 索氏提取和超声波提取的回收率都能满足农药残留测定的需要。采用石油醚-丙酮混合溶剂作为提取溶剂可以有效地从人参样品中将有机氯农药提取出来。它们的缺点是仍消耗大量有机溶剂, 尤其是索氏提取法, 这不仅造成对人体和环境的潜在危险, 而且使最终处理液体积增大、待测物浓度偏低, 不得不进行旋转浓缩以加大浓度, 满足检测器的灵敏度需要。在浓缩过程中, 如果速度很快, 还有可能使分析物少量蒸出, 使分析结果出现错误。

3.3.2 净化方法的评价

磺化法虽然适用于 HCH、六氯苯、DDT 和五氯硝基苯的净化, 但对百菌清不合适。从实验结果来看, 在添加的人参样品中百菌清回收率极低, 见表 3.2 和 3.3。对人参中百菌清的单残留分析中, 酸性丙酮作为提取体系可以从人参中提取百菌清。在浓硫酸存在条件下, 百菌清可能与原提取液分离而随净化废液排出。因此, 作为对 11 种有机氯农药都行之有效的净化方法, 柱层析或 SPE 应为首选。

在磺化法过程中, 需要使浓硫酸与提取液充分混合, 所以应猛烈晃动分液漏斗, 并不断放气, 否则由于混合产生的大量气体可能胀破漏斗, 溅出浓硫酸。这对分析工作者造成许多不安全的隐患, 而且净化废液腐蚀性强, 难于处理。

3.3.3 气谱测定

根据优化的色谱条件, 对 11 种有机氯混合标准溶液进行分离测定, 得到色谱图 3.1。从图中可以看出, 此色谱条件能够使 11 种物质全部达到基线分离, 为分析实际样品创造了适宜的分离条件。

3.3.4 添加回收实验结果

按照 3.2.2.2 和 3.2.2.3 的实验步骤, 对人参样品的三个添加水平分别采用索氏提取-磺化法和超声波提取-磺化法进行方法回收率实验, 结果见表 3.2 和 3.3。值得注意的是, 农药百菌清无论采用哪种方法, 在三个水平的添加回收率都很低, 精密度也不好。充分说明百菌清在处理过程中损失严重, 两种方法均不适合做百菌清的前处理方法。在索氏提取-磺化法中, 其它化合物在 $0.01\mu\text{g/mL}$ 的添加水平, 平均回收率为 72%~107%, 变异系数为 8.30~15.90%; 在 $0.05\mu\text{g/mL}$ 的添加水平, 平均回收率为 84%~105%, 变异系数为 4.39~10.23%; 在 $0.1\mu\text{g/mL}$ 的添加水平, 平均回收率为 81%~97%, 变异系数为 1.66~7.33%。在超声波提取-磺化法中, 其它物质在 $0.01\mu\text{g/mL}$ 的添加水平, 平均回收率为 73%~109%, 变异系数为 8.94~15.89%; 在 $0.05\mu\text{g/mL}$ 的添加水平, 平均回收率为 81%~103%, 变异系数为 3.27~11.61%; 在 $0.1\mu\text{g/mL}$ 的添加水平, 平均回收率为 87%~98%, 变异系数为 1.99~7.86%。两种方法对除百菌清以外

的其余 10 种化合物的添加回收率和精密度均能满足农药残留测定标准。

3.3.4.1 索氏提取法

表 3.2 人参样品中有机氯农药的添加回收率、精密度

Table 3.2 Recoveries and precisions of OCPs from Panax Ginseng(Soxlet extraction)

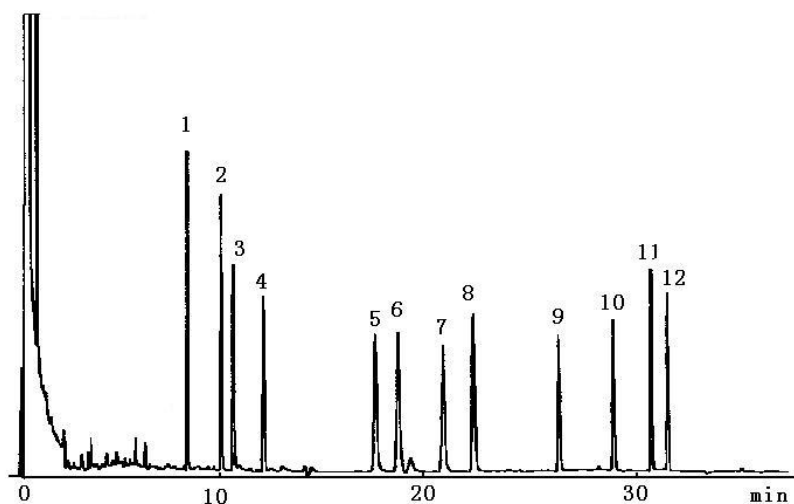
序号 No.	农药 Pesticide	平均本底浓度 Average Blank (mg/kg)	添加浓度 Spiked (mg/kg)	平均回收率 Average Recovery (%)	变异系数 CV %
1	HCB	0.0031	0.01	106	12.61
			0.05	88	10.23
			0.1	96	3.02
2	α -HCH	0.0116	0.01	72	14.52
			0.05	84	6.80
			0.1	96	3.90
3	Quintozene	0.0473	0.01	106	9.86
			0.05	94	5.34
			0.1	87	5.27
4	γ -HCH	0.0057	0.01	102	15.90
			0.05	98	9.72
			0.1	97	7.33
5	百菌清	—	0.01	—	—
			0.05	24	39.87
			0.1	37	59.21
6	β -HCH	—	0.01	74	12.50
			0.05	89	4.39
			0.1	81	1.66
7	δ -HCH	0.0245	0.01	102	9.85
			0.05	90	6.36
			0.1	88	6.90
8	<i>pp'</i> -DDE	0.0145	0.01	77	13.48
			0.05	96	6.69
			0.1	86	4.67
9	<i>op'</i> -DDT	—	0.01	88	10.35
			0.05	105	8.25
			0.1	83	3.28
10	<i>pp'</i> -DDD	0.0052	0.01	74	8.30
			0.05	103	7.56
			0.1	89	4.28
11	<i>pp'</i> -DDT	0.0102	0.01	107	10.65
			0.05	100	8.25
			0.1	94	5.29

3.3.4.2 超声波提取法

表 3.3 人参样品中有机氯农药的添加回收率、精密度

Table 3.3 Recoveries and precisions of OCPs from Panax Ginseng(Sonication extraction)

序号 No.	农药 Pesticide	平均本底浓度 Average Blank (mg/kg)	添加浓度 Spiked (mg/kg)	平均回收率 Average Recovery (%)	变异系数 CV %
1	HCB	0.0027	0.01	78	13.33
			0.05	85	10.51
			0.1	89	6.98
2	α -HCH	0.0098	0.01	79	15.89
			0.05	81	9.61
			0.1	98	2.43
3	Quintozene	0.0465	0.01	109	10.50
			0.05	83	3.27
			0.1	91	1.99
4	γ -HCH	0.0032	0.01	101	12.62
			0.05	100	5.85
			0.1	92	2.56
5	百菌清	—	0.01	—	—
			0.05	54	43.90
			0.1	64	46.81
6	β -HCH	—	0.01	73	11.38
			0.05	103	9.93
			0.1	91	6.35
7	δ -HCH	0.0209	0.01	107	13.50
			0.05	81	11.08
			0.1	87	7.86
8	<i>pp'</i> -DDE	0.0167	0.01	74	8.94
			0.05	91	11.61
			0.1	92	2.13
9	<i>op'</i> -DDT	—	0.01	80	14.97
			0.05	88	6.82
			0.1	89	6.51
10	<i>pp'</i> -DDD	0.0069	0.01	75	13.92
			0.05	83	6.09
			0.1	87	2.30
11	<i>pp'</i> -DDT	0.0132	0.01	76	13.59
			0.05	86	11.22
			0.1	92	4.50



1 HCB; 2 α -HCH; 3 Quintozene; 4 γ -HCH; 5 Chlorothalonil; 6 β -HCH;
7 δ -HCH; 8 HEPCIO; 9 *pp'*-DDE; 10 *op'*-DDT; 11 *pp'*-DDD; 12 *pp'*-DDT

图 3.1 十一种有机氯农药标准品气相色谱图

Fig.3.1 GC chromatograms of 11 OCPs

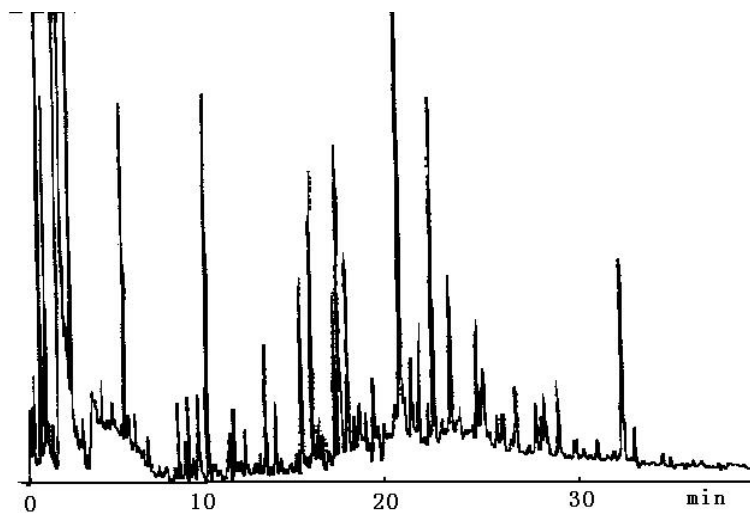


图 3.2 人参样品添加(0.01 μ g/mL)有机氯农药气相色谱图

Fig.3.2 Chromatograms of 11 OCPs in spiked Panax Ginseng (0.01 μ g/mL)

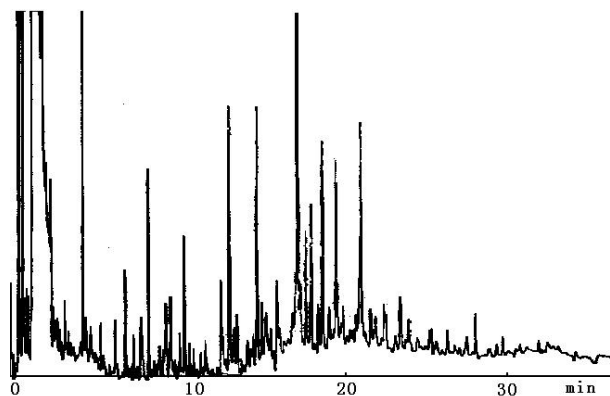


图 3.3 空白人参样品气相色谱图

Fig.3.3 Chromatograms of 11 OCPs in Panax Ginseng

第四章 水相中有机氯农药的 SPME 热力学和动力学研究

用 SPME 样品处理之前,对目标化合物在 SPME 萃取头上的萃取热力学和动力学以及它们在固定相上的分配情况加以研究是非常必要的。因此,本章对有机氯农药在纯水中进行 SPME 萃取,以获取这些物质在 SPME 上的一些基本萃取参数,优化萃取条件,从而指导下一步的研究工作。

4.1 材料与方法

4.1.1 仪器和试剂

4.1.1.1 仪器

日本Shimadzu GC-9A 气相色谱仪(附⁶³Ni电子捕获检测器,日本Shimadzu公司C-R4A数据处理机)

SPME 装置及纤维,固定液为聚二甲基硅酮(膜厚为 7 μ m 和 100 μ m)和聚丙烯酸酯(膜厚为 85 μ m)(SUPELCO 公司)

磁力加热搅拌器

4.1.1.2 试剂

农药标准品 α -HCH, β -HCH, γ -HCH, δ -HCH, *op*'-DDT, *pp*'-DDT, *pp*'-DDD(国家标准物质中心), *pp*'-DDE(DIKMA 公司,加拿大),五氯硝基苯、六氯苯、百菌清(吉林农业大学测试中心)加标的混合标准溶液:将 20mg 标准品 α -HCH, β -HCH, γ -HCH, δ -HCH, *op*'-DDT, *pp*'-DDT, *pp*'-DDD(国家标准物质中心), *pp*'-DDE(DIKMA 公司,加拿大),五氯硝基苯(吉林农业大学测试中心)用分析纯甲苯溶解后再用分析纯正己烷定容配制成 2000 μ g/mL 混合标准溶液。用甲醇稀释至 200 μ g/mL 形成工作标准溶液。通过向盛有二次蒸馏水的取样瓶中添加合适量的工作标准溶液,形成 1 μ g/L 的标准溶液待用。

石油醚(60~90 $^{\circ}$ C, 30~60 $^{\circ}$ C, 分析纯,重蒸);丙酮(分析纯,重蒸);无水硫酸钠(分析纯);浓H₂SO₄(分析纯);乙腈(色谱纯);正己烷(分析纯,重蒸);二次蒸馏水。

4.1.2 实验内容

4.1.2.1 测定条件

中国科学院大连化学物理研究所国家色谱分析研究中心 OV-1701 弹性石英毛细管柱 30m $\times$ 0.32mm $\times$ 0.5 μ m);

载气为氢气,柱前压 0.1MPa;

补充气为高纯氮 99.999%。流量 20mL/min;

气化温度 300 $^{\circ}$ C,检测温度 300 $^{\circ}$ C,

升温程序为：70℃ (1min) $\xrightarrow{25^{\circ}\text{C}/\text{min}}$ 180℃ (15min) $\xrightarrow{5^{\circ}\text{C}/\text{min}}$ 275℃ (10min)。

初始状态为不分流进样，2min 后打开分流阀。

4.1.2.2 分析步骤

首先对 SPME 萃取头按各自的老化温度老化，以除去杂质。将酸洗过的磁转子放入盛有一定体积二次蒸馏水的光学玻璃为材料的取样瓶中，盖上螺旋盖。将 SPME 固定于取样瓶上部，使针头刺破螺旋盖的隔垫，然后推出柱塞使纤维萃取头从保护套中暴露出来。在搅拌条件下，经过一定时间萃取以后，将纤维头拉回，立即将针管插入气相色谱气化室，并推出纤维，待测物质会被气化室的高温热解析。

为了衡量不同萃取头对有机氯农药的萃取效率，选择 85 μm PA、7 μm 和 100 μm PDMS 作为选择对象，分别萃取水中 11 种有机氯农药。

为了比较直接萃取和顶空萃取对萃取效率的影响，本实验设计采用两种萃取方式对样品进行萃取。首先，采用 100 μm PDMS 萃取头对浓度在 1~20 $\mu\text{g}/\text{L}$ 的系列混合标准溶液进行直接浸入萃取，每次样品液的体积为 4mL。

在 1 $\mu\text{g}/\text{L}$ 的纯水为基体的溶液中，施以静止与搅拌条件，以研究搅拌对萃取过程的影响。

为研究萃取过程动力学，对 1 $\mu\text{g}/\text{L}$ 的纯水溶液采取不同的萃取时间，绘制萃取时间-吸附量坐标图，以确定各个化合物在进行 SPME 时所需要的平衡时间。

为了解 SPME 方法的回收率和精密度，对添加浓度为 1 $\mu\text{g}/\text{L}$ 的纯水溶液进行 11 次重复萃取。萃取采用 7 μm 和 100 μm PDMS 萃取头分别进行。

采用不同的解析时间和温度，对已萃取完毕的 SPME 在气相色谱的解析条件进行优化。

4.2 结果与分析

4.2.1 纤维萃取头的选择

在选择萃取头时，除了要根据待测物质应该与萃取头有大致相似的极性以外，更为重要的是还要根据萃取效率来选择萃取头，否则会造成误导。由图 4.1 可以看出，PA 萃取头虽然是极性萃取头，但对 HCH 的四个异构体的萃取效率要高于非极性的 PDMS，而 PDMS 对其它化合物的萃取效率则高于 PA 的萃取效率，尤其对五氯硝基苯、六氯苯、*op'*-DDT、*pp'*-DDT、*pp'*-DDE 的萃取效率更是明显高于 PA。如果综合考虑用一根萃取头同时萃取以上 11 种化合物，应当选择 PDMS 萃取头。在选择 PDMS 萃取头时，纤维头膜厚也是一项重要的考虑因素。图 4.1 所示，7 μm PDMS 萃取头的萃取效率明显要低于 100 μm PDMS 萃取头，这是由于对同一种固定液的萃取头，它与样品基体的接触面积随膜厚的增加而增大。对于一根 10mm 长、直径为 110 μm 的承载固定液的熔融石英纤维，固定液涂层厚度为 100 μm 和 7 μm 时，其表面积分别为 9.8 和 3.9 mm^2 。可以设想，在较短的萃取时间内，具有相对较大表面积的 100 μm 膜厚萃取头由于有了更多的接触待测农药的机会而使待测农药向固定液涂层上可以快速分配。而对于 7 μm 膜厚萃取头，由于其自身较小的表面积，而显示出萃取效率的显著降低。除此以外，在熔融纤维上可能发生的对待测农药的不可

逆吸附，也可能是造成其萃取效率降低的主要原因。

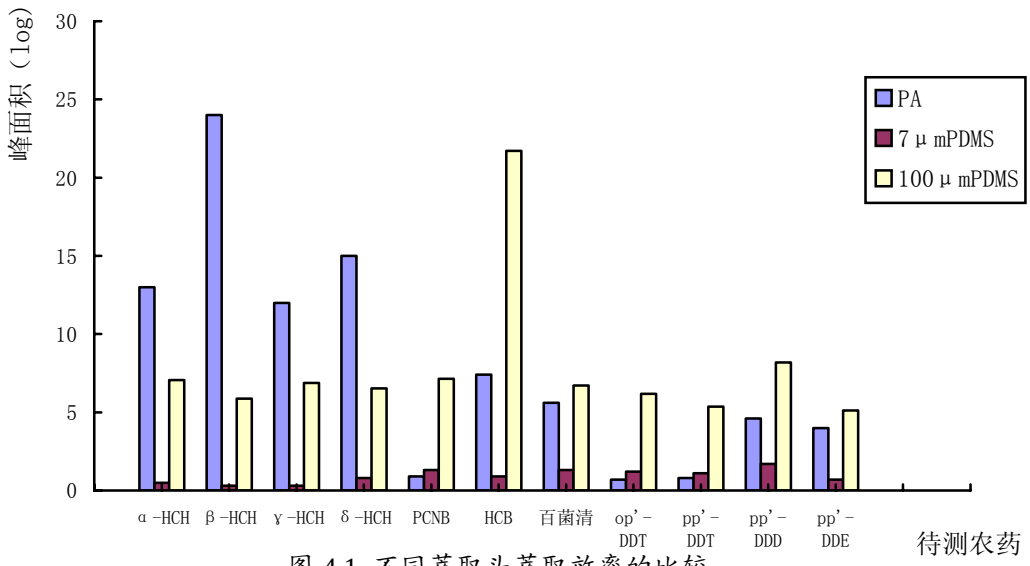


图 4.1 不同萃取头萃取效率的比较

Figure 4.1 Comparison of extraction efficiency for different fibers

4.2.2 萃取方式的选择

萃取方式的选择主要应该考虑样品基体的性质、待测物的挥发性和它们与基体的亲合力。如图 4.2 所示，直接萃取要比顶空萃取的效率低，这与 11 种化合物具有很低的蒸汽压、难挥发有关。鉴于此，选择直接萃取作为本实验 SPME 的萃取方式。

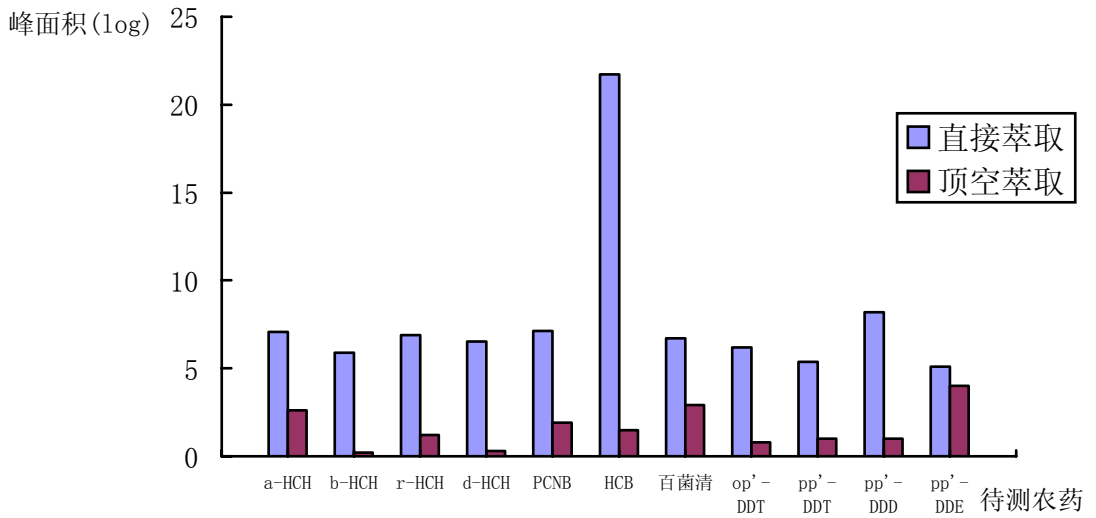


图 4.2 直接萃取和顶空萃取对萃取效率的影响

Figure 4.2 Effect of direct extraction and headspace extraction on extraction efficiency

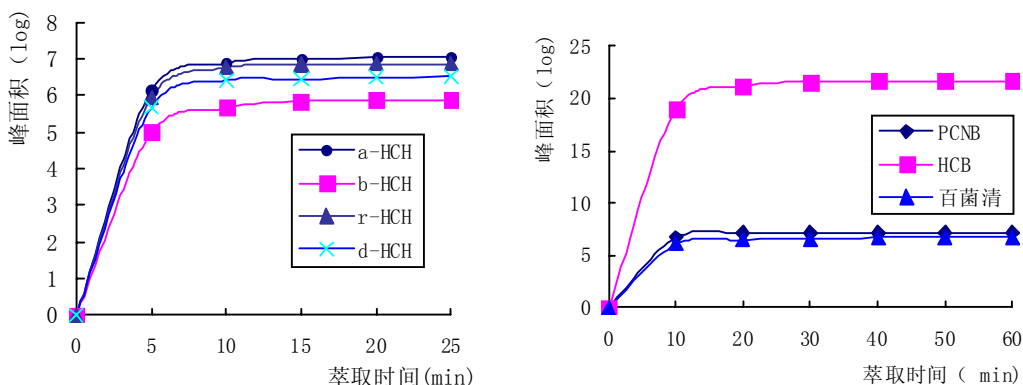
SPME 萃取方式还在于在平衡与彻底转移之间作出选择。在 SPME 方法中, 实现完全萃取最普遍的方法为冷却纤维萃取头。平衡方法有着比完全萃取方法更多的优越性。由于它能够充分利用各个物质萃取相/基体分配系数的差异而实现目标分析物与杂质的分离, 使它更具有选择性。而在完全萃取中, 萃取的选择性由于要获得全部目标分析物质向萃取相的转移而牺牲了萃取的选择性。因此, 平衡方法一般无需净化步骤, 而完全萃取则往往需要净化。

虽然完全萃取被认为可以降低实验误差, 但它所能真正描述的是样品的添加回收率, 而不是原始分析物。因此, 如果强烈吸附于基体的原始分析物质没有从基体中释放出来, 原始分析物的量也不可能通过完全萃取的结果所计算出来。但一旦萃取条件有能力将原始分析物提取出来, 那末无论是完全萃取还是平衡萃取都可以得到精确的结果。

4.2.3 平衡时间的确定

通过绘制萃取时间-萃取量曲线, 可以推测每种物质达到平衡所需时间。由图看出, 11 种物质的平衡时间由 15min 到 210min 不等。对于 HCH 异构体、六氯苯、五氯硝基苯、百菌清这些物质都能够在很短的时间内达到平衡状态 (15min, 20min, 20min, 20min), 但除了五氯硝基苯外, 其余物质的萃取绝对量并不是很高。DDT 及其降解物的平衡时间相对较长, 其中除 *pp'*-DDE 的平衡时间为 90min 以外, 其余都在 200min 以上。

本实验选择 60min 作为萃取时间, 在此时间之内, HCH 异构体、六氯苯、五氯硝基苯、百菌清都已达到平衡状态, 而对 DDT 及其降解物, 平衡还未达到。虽然没有达到平衡, 但由于这些物质具有很高的分配系数 ($K > 10000$) 而使方法灵敏度不会因此而显著降低。但同时应当注意的是, 由于平衡还未达到, 在萃取时间上的微小变化都会产生在萃取量上的偏差。因此, 要严格控制萃取时间, 使每次的萃取都在相同时间完成。



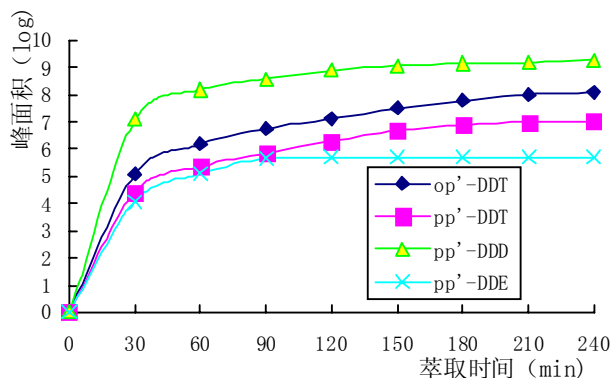


图 4.3 11 种有机氯农药水中 SPME 吸附量-吸附时间曲线 (搅拌条件下)

Figure 4.3 Extraction time profile corresponding to extraction of 11 OCPs from water under magnetic stirring

4.2.4 盐析效应

在进行萃取时,应尽可能多地使目标物质以“分子态”分配到萃取头的固定液上,这样才可以提高萃取效率。因此,在萃取之前,将目标物质首先转变为中性状态十分必要。盐的加入会使样品溶液的离子强度增大,从而导致溶液中离子的活度系数增高,最终导致目标化合物“分子态”量上的改变而影响到萃取。

由图 4.4 看出,对于加入不同量 NaCl 所形成的不同盐浓度样品溶液,其被 SPME 萃取的效率有所不同。其中四种 HCH 异构体、五氯硝基苯、六氯苯和百菌清的萃取

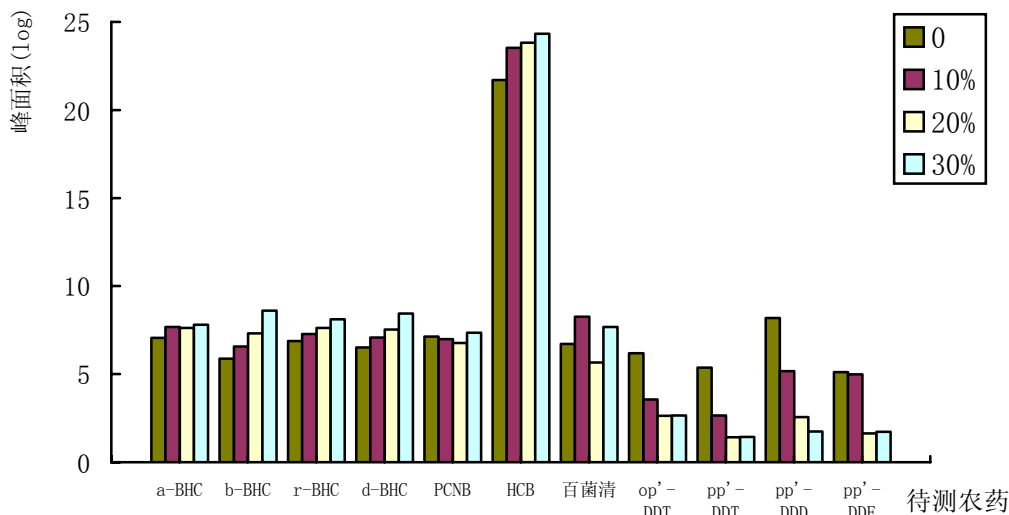


图4.4 盐浓度对萃取效率的影响

Figure 4.4 Effect of salt concentration on extraction efficiency

量随盐浓度的增大而稍有变化。而对于 DDT 及其代谢物,其萃取量则随盐浓度的增

加而下降,特别需要指出的是,在无盐和盐浓度为 10%两种情况下,萃取量的差异相对于前几种化合物更为突出,这可能与 DDT 及其代谢物在两种条件下的溶液中的存在形态有关,即盐的加入使 DDT 系列的四种物质在水溶液中部分地解离,“分子态”化合物的量有所减少。而对于前几种化合物,“分子态”化合物的量虽然随盐浓度的变化不大,但可以肯定的是,盐的加入阻碍了它们在溶液中的解离。

在高盐浓度的情况下(30%),所有化合物萃取量的差异不是很大。所引起的相对各自的无盐和低盐浓度不同程度的变化是由于很高的离子强度造成溶液中质子活动的剧烈,从而降低了溶液的 pH 值。溶液 pH 值的改变最终影响到了目标化合物在溶液中的解离“分子态”化合物量的变化自然会引起萃取效率的变化。

综上所述,无论以上哪种条件,萃取效率的变化都是由于化合物在溶液中的存在形态发生变化所引起的,只是引起这种变化的原因可能是盐析效应,可能是溶液 pH 值的变化。

本实验采用无盐条件下进行 SPME,这不仅是由于盐的加入没有显著提高萃取效率,反而对 DDT 等物质的萃取效率有所降低,而且 NaCl 有在气谱的玻璃内衬管内壁上保留的可能,从而影响下几次的分析。

4.2.5 解析条件的优化

4.2.5.1 解析时间和温度的选择

解析的温度和时间应满足使分析物质尽量全部地从纤维萃取头转移下来。其验证标准为在接下来的第二次解析中有最小量的残余物存在,即认为从样品中萃取的物质已经全部转移到色谱柱中。以此标准,本实验选取 280℃解析 2min 为解析条件。实验证明,在此条件下的能够使全部待测物质解析下来,虽然在接下来的解析中有残余物的存在,但都被证明是微量杂质。

4.2.5.2 一次萃取后萃取残余物的处理

通过对第一次萃取后再经气谱热解析的萃取头进行第二次解析的实验,发现在萃取头上还存在极少量的仍然保留在萃取头上未被彻底解析掉的残余杂质。这些残余杂质在接下来的第三次解析中,未被发现。因此,为保证 SPME 分析工作的准确性和重现性,在每次用 SPME 萃取样品之后,都应在另一台气谱的进样口处对 SPME 萃取头进行热解析以清除残余杂质。本实验采用 250℃条件下热解析 3min,然后在室温下冷却 2min 后,再进行下一次的萃取。实验证明,经过上述方法处理的萃取头无任何杂质,对下次的萃取不产生任何负面影响。

4.2.5.3 内衬管体积对解析的影响

如 2.2.2.3 所述,SPME 的解析必须要在一个能产生很高载气线速的内衬管中进行,这样可以使萃取头所吸附的物质能快速进入毛细管柱,而不是缓慢转移到柱端造成色谱峰的拖尾。对于长度都在 10cm 的内衬管,直径 3mm 的内衬管可以产生 0.24cm/s 的载气流速,解析下来的物质转移至柱端需 44s,产生严重拖尾;而直径在 0.8mm 的

内衬管只需 3s，因为它会产生 3.3cm/s 的高流速。

4.2.6 搅拌对萃取速度的影响

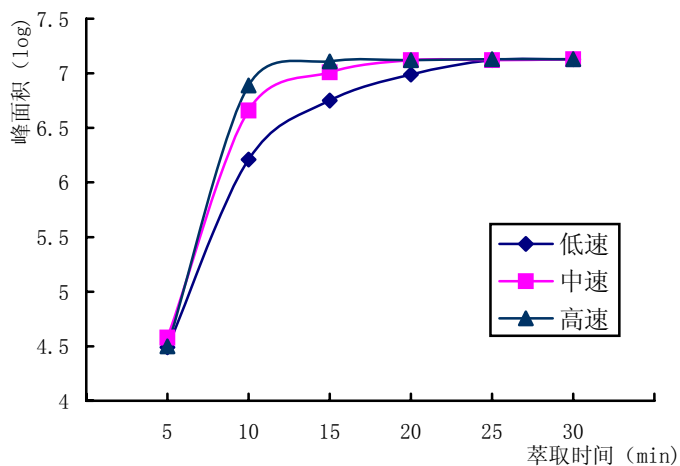


图4.5不同搅拌条件对PCNB萃取速度的影响
Figure 4.5 Effect on extraction kinetics under different stirring conditions

搅拌技术的有效性决定了水样溶液样品达到平衡的时间。在许多情况下，搅拌可以使样品基质与纤维萃取头之间的物质转移变得更加容易。本实验采用操作方便的磁力搅拌技术。图 4.5 表示了搅拌速度对五氯硝基苯平衡时间的影响。结果显示，五氯硝基苯的平衡时间随转速的提高而下降。对全部分析物质而言，搅拌的影响是一致的。高速搅拌条件下，会产生很大的旋涡，因此，为防止萃取头被搅拌棒打断，采用中速搅拌。

第五章 人参中有机氯农药多残留 GC/MS 分析方法的研究

由于环境物质和人参基体化学构成的复杂性会干扰测定,同时残留物的量属痕量级,这就给测试分析工作增加了难度。现在国际上对营养食品中农药残留量的要求也越来越严格,对现时检测技术提出了较高的要求,使得仅从色谱保留时间来断定人参中仍存在着这些有机氯农药残留,显然是不很可靠的,有可能环境中其它物质的保留时间与其相类似,因此,对人参中的农药残留进行准确定性也是一项重要任务。

本方法是采用乙腈-水提取体系,超声波提取人参中 11 种有机氯农药残留。在进行 SPME 富集之前,采用 C₁₈ SPE 柱对提取液净化,然后直接将 SPME 萃取头插入 GC/MS 的进样口,通过高温使吸附在萃取头上的待测物质解析,从而通过毛细管色谱柱,依此分离开来,进入质谱检测器同时达到定性、定量分析的目的。

5.1 材料与方法

5.1.1 仪器与试剂

5.1.1.1 仪器

日本 Shimadzu 公司 GC/MS-QP5000 气相色谱质谱联用仪;

DL-1 型固相萃取器(国家色谱研究分析中心);

Sep-Pak C₁₈ 固相萃取柱(Waters Association, 美国);

SPME 装置及纤维,固定液聚二甲基硅酮的膜厚为 100 μ m(SUPELCO 公司,美国);

SHZ-3 型循环水多用真空泵;

KQ-250 超声波清洗器;

2FA-III 型真空旋转浓缩器(上海)

LG10-2.4A 型离心机

恒温水浴

5.1.1.2 试剂

农药标准品 α -HCH, β -HCH, γ -HCH, δ -HCH, *op'*-DDT, *pp'*-DDT, *pp'*-DDD 和(国家标准物质中心), *pp'*-DDE(DIKMA 公司,加拿大),五氯硝基苯、六氯苯、百菌清(吉林农业大学测试中心)、内标物:环氧七氯

乙腈(色谱纯);正己烷(分析纯);二次蒸馏水

5.1.2 实验内容

5.1.2.1 测定条件

气谱条件: J&W Scientific DB-1 弹性石英毛细管柱 30m $\times$ 0.32mm $\times$ 0.5 μ m);

载气为氦气,柱前压 100KPa;

气化温度 280 $^{\circ}$ C

升温程序为：100℃（1min） $\xrightarrow{7^{\circ}\text{C}/\text{min}}$ 220℃（15min） $\xrightarrow{10^{\circ}\text{C}/\text{min}}$ 260℃（0min）。

质谱条件：接口温度：280℃

离子源温度：280℃

测定方式：选择离子监测方式（SIM）

电离方式：EI

电离能量：70eV

选择监测离子（m/z）：见图 5.2

5.1.2.2 实验步骤

1 将人参样品 5~10g 放入离心管中，加 25ml 乙腈-水=65：35（V/V）混合溶剂，静止待人参样品浸透。

2 在超声波发生器中提取 30min，离心（1500rpm）5min。轻轻倒出上清液 25ml 于 100ml 容量瓶中，用水稀释至刻度，倒转混匀，待 SPE 柱净化。

3 活化C₁₈柱，用 1 个柱体积的 90%丙酮-水淋洗，再用 2 个柱体积的甲醇、水清洗。在柱上保留 1~2cm 的水层，使之保持湿润状态。

4 将 SPE 装入真空系统中。转移萃取液 50ml 入 SPE 柱上的漏斗，调整真空度，以使流速为 2~3 滴/秒。上样完毕，用 5ml 水清洗漏斗（此水也应通过 SPE 柱）。

5 移走漏斗，用 5ml 乙腈-水（65：35）混合溶剂淋洗 SPE 柱两次。淋洗完毕，加大真空 10~15min，以抽净柱中存水，此水弃掉。

6 加 1 个柱体积的 90%丙酮-水混合溶剂到C₁₈柱上，等待 3min。然后用吸球施加压力，使流速为 3 滴/min，收集淋洗液于 25ml 浓缩瓶中。全部淋洗完毕后，强行排除柱中残余溶剂。

7 浓缩瓶中的洗脱液旋转蒸发去除丙酮，用二次水定容至 1mL，转移到装有磁力搅拌棒的取样瓶中，准确吸取 1mL 二次水分三次洗涤浓缩瓶，合并洗涤液于取样瓶中。在搅拌条件下，采用实现老化好的 100μmPDMS 的 SPME 进行富集，时间为 60min。

8 SPME 立即转移至 GC/MS 进样口处，进样检测。

5.2 结果与分析

5.2.1 SPE 上样溶剂的确定

由于在SPE方法建立中,要求样品溶剂强度相对该固定相应较弱,因为弱溶剂会增强分析物在吸附剂上的保留,如果溶剂太强,将得不到保留或保留太弱。对本方法中采用的SPE柱而言,由于C₁₈柱是反相吸附柱,因此水、乙腈对它属于弱溶剂,不影响分析物的保留。

5.2.2 SPE 洗脱分布图的建立

5.2.2.1 洗脱分布图的建立

配制不同浓度丙酮-水混合溶剂,作为洗脱溶剂过吸附有一定量 11 种有机氯化化合物的C₁₈反相SPE柱。收集每一个上样和淋洗/洗脱溶液,使之与石油醚进行液液分配,

使有机氯化合物转至有机相，浓缩后进行GC检测。由此绘制丙酮-水SPE洗脱分布图，以确定上样、淋洗和洗脱溶液。

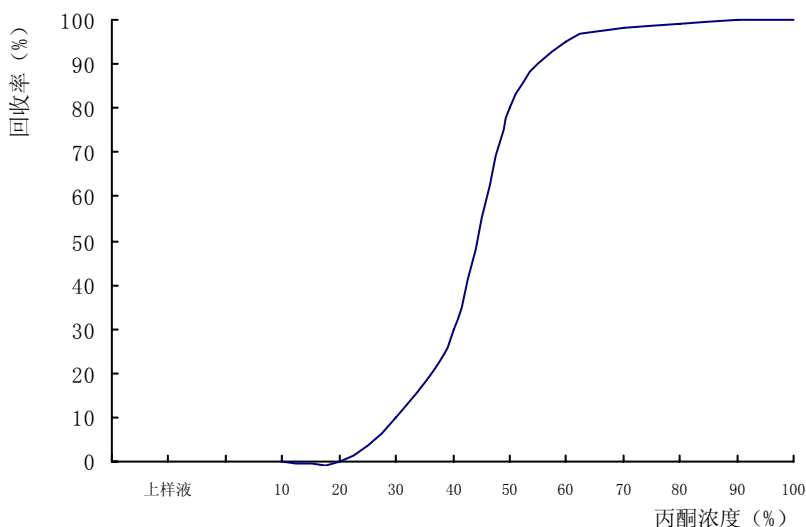


图 5.1 SPE 洗脱分布图

Figure 5.1 Distribution chart of SPE elute

注：上样液为乙腈-水混合溶剂（65：35）

由于本实验的分析物数量为 11 种，因此图中回收率为 11 种分析物的平均回收率

5.2.2.2 上样溶剂、淋洗溶剂和洗脱溶剂的选择

由图 5.1 得出结论，上样液为 35%乙腈-水混合溶液，通过 SPE 柱后分析得到上样液中无分析物，即没有发生分析物质的穿漏现象，说明该混合溶液的极性足够弱，可以作为上样溶液。由于在超声波提取阶段，提取溶剂为 35%乙腈-水混合溶液，所以可以把此提取液直接作为 SPE 的上样溶液进行 SPE 的净化。

此外，由图 5.1 还可以得出结论：因为淋洗溶剂应尽量地弱以洗掉尽量多的干扰组分，所以选择 20%丙酮-水混合溶液。如果采用稍高比例的丙酮，会将分析物洗出。80%丙酮-水混合溶液可以洗出全部分析物，在实际应用中，采用 90%丙酮-水混合溶液作为洗脱溶剂。采用丙酮会使极性过强而将更强保留的组分被洗脱出来，影响分析测定。70%丙酮-水混合溶液虽然能够基本全部洗出分析物，但溶剂显得太弱，因此需要太多的溶剂来洗出分析物，使 SPE 的浓缩作用削弱。

5.2.3 SPME 方法的建立

5.2.3.1 丙酮对 SPME 萃取水中有机氯农药的影响

本实验采用丙酮-水混合溶剂作为SPE洗脱溶剂，所以SPME的萃取对象就成为混有很大比例有机溶剂的水溶液。虽然丙酮与水可以互溶，但丙酮的存在仍然对样品基体的性质产生很大的改变，从而改变了待测组分在基质和萃取头的上的分配系数，其

改变遵循方程式 $K_{fs}=2.303K_{fw}\exp[(P_1-P_2)/2]$ (K_{fs} 和 K_{fw} 分别是待测组分在混合溶剂和纯水中的分配系数)^[58]。由此可见, 丙酮的存在会因降低待测组分的分配系数而降低 SPME 的萃取量。因此, 在进行 SPME 之前, 应当将丙酮通过旋转蒸发而排除掉。这也是本实验采用丙酮-水混合溶剂作为洗脱溶剂而没有采用乙腈-水混合溶剂作为洗脱溶剂的原因, 因为乙腈具有相对较高的沸点, 难于被蒸发, 而且在旋转蒸发过程中存在与水的共沸现象, 很难确定经过蒸发后的溶液中是否还有大量乙腈的存在。

5.2.3.2 标准曲线的建立

分别向 4mL 的二次蒸馏水中用微量注射器加入一定量的 200 μ g/mL 11 种有机氯农药正己烷为溶剂的混合标准溶液, 配制浓度为 0.001~100 μ g/L 的系列标准溶液。按照第四章优化的 SPME 条件, 对此系列混合标准水溶液进行 SPME 萃取, GC/MS 测定, 以待测组分的浓度为横坐标, 以待测组分的峰面积为纵坐标作标准曲线图, 各自的直线方程和线性范围见表 5.1。

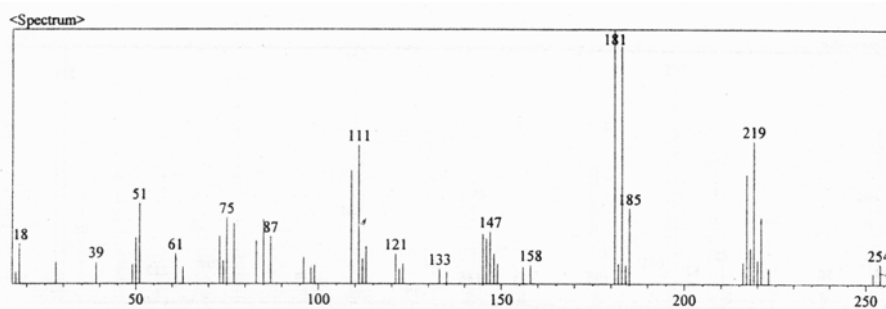
表 5.1 11 种有机氯农药 GC/MS 测定线性方程及相关系数

Table 5.1 Linearity range and relative coefficient of 11 OCPs in GC/MS determination

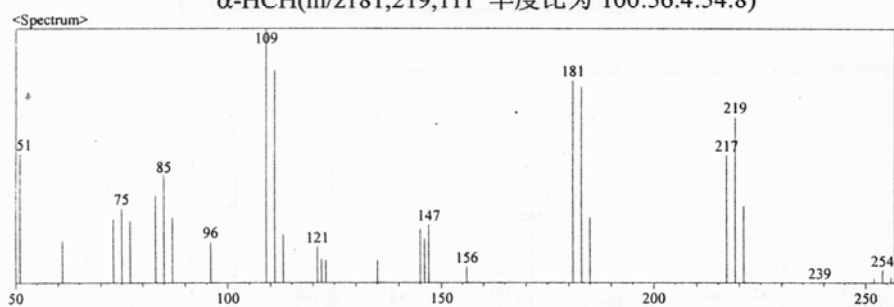
农药	线性方程	相关系数(r^2)
α -HCH	$Y=657924X-1328$	0.9923
β -HCH	$Y=615767X-2214.5$	0.9999
γ -HCH	$Y=404162X-1080$	0.9921
δ -HCH	$Y=718248X+93$	0.9992
Quintozene	$Y=190661X-672.5$	0.9939
HCB	$Y=1596830X-547$	0.9967
chlorothalonil	$Y=17720400X-7301$	0.9968
<i>op'</i> -DDT	$Y=1536540X-2917.5$	0.9926
<i>pp'</i> -DDT	$Y=1431280X-3982$	0.9942
<i>pp'</i> -DDD	$Y=2567900X-340.5$	0.9952
<i>pp'</i> -DDE	$Y=325695X-84$	0.9934

5.2.4 气相色谱-质谱条件的选择

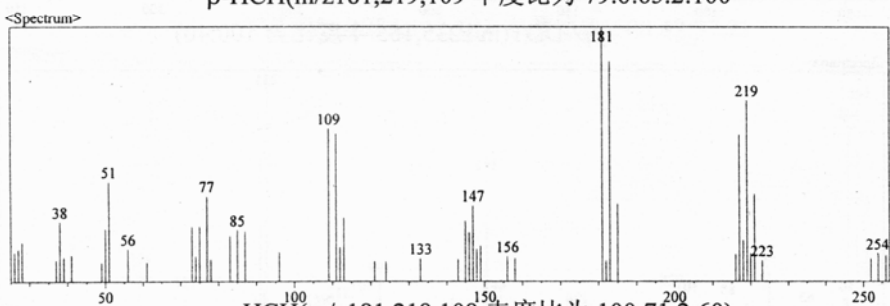
在气相色谱分析中, 干扰物与待测物在同一根色谱柱具有相同保留时间的现象经常发生, 特别是对人参这种组成十分复杂的样品, 尽管采用了针对有机氯农药残留测定的提取、净化方法, 但对于一些干扰物与待测物性状相似的组分, 仍无法消除干



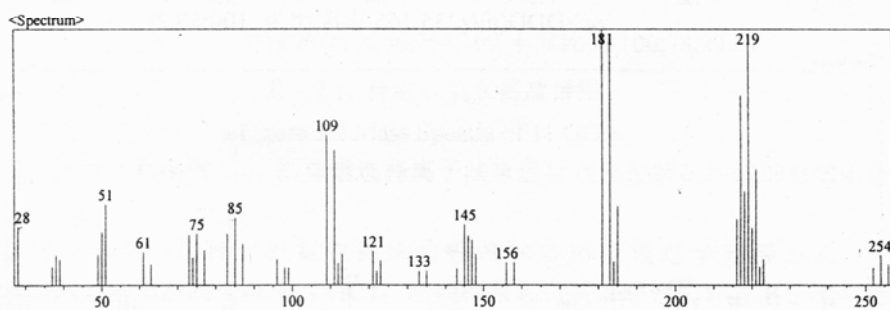
α -HCH(m/z 181,219,111 丰度比为 100:56.4:54.8)



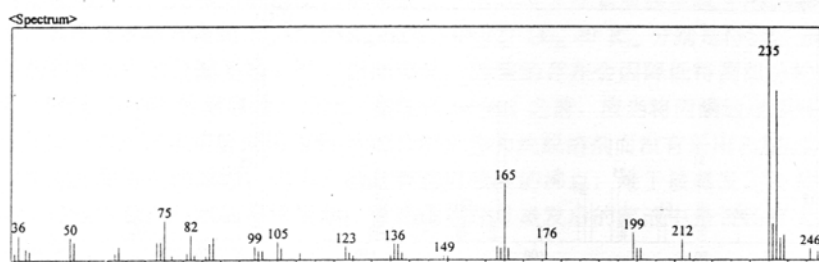
β -HCH(m/z 181,219,109 丰度比为 79.6:65.2:100)



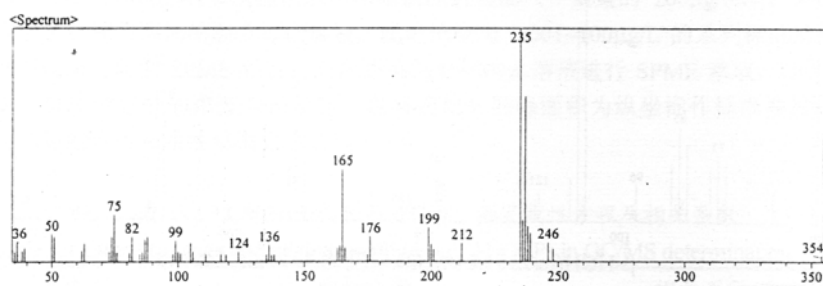
γ -HCH(m/z 181,219,109 丰度比为 100:71.2:60)



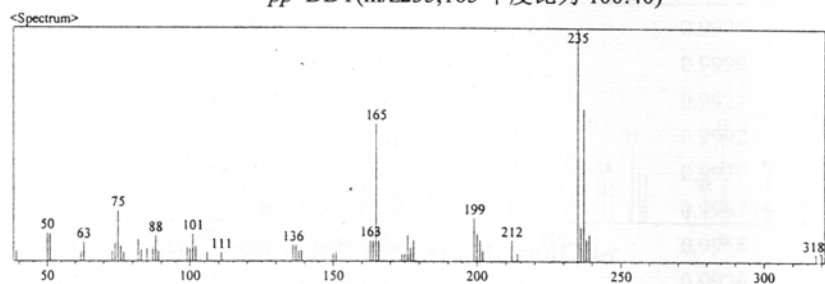
δ -HCH(m/z 181,219,109 丰度比为 100:95.6:58.8)



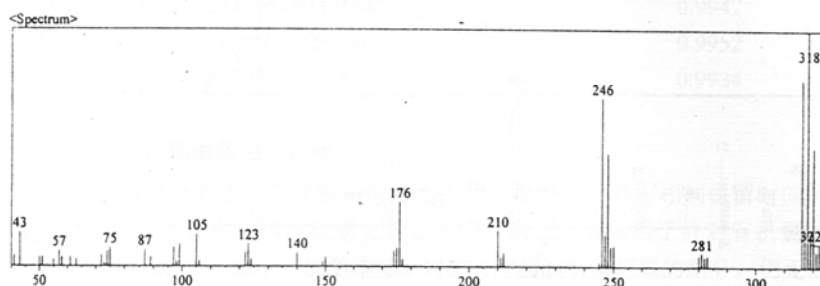
op'-DDT(m/z 235,165 丰度比为 100:33.2)



pp'-DDT(m/z 235,165 丰度比为 100:40)



pp'-DDD(m/z 235,165 丰度比为 100:59.2)



pp'-DDE(m/z 318,246,176 丰度比为 100:71.2:27.2)

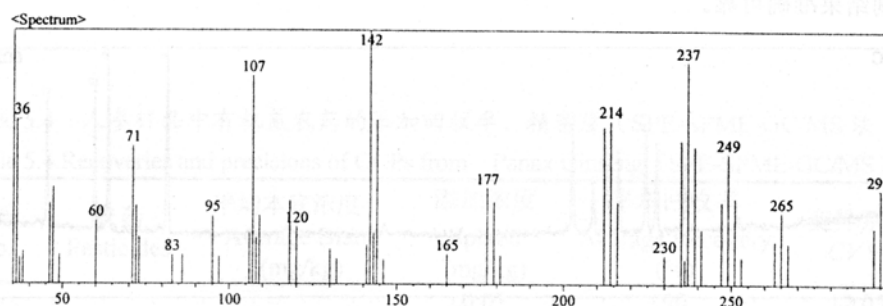
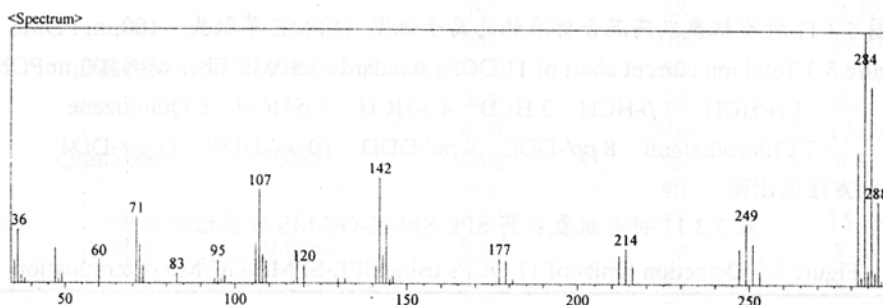
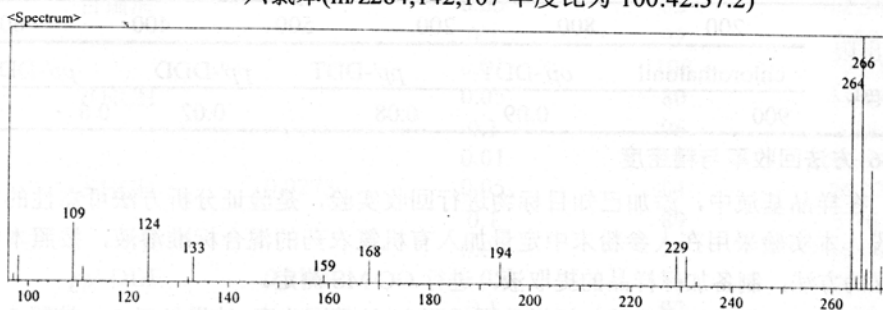
五氯硝基苯(m/z 142,237,295 丰度比为 100:87.6:38)六氯苯(m/z 284,142,107 丰度比为 100:42:37.2)百菌清(m/z 266,264,109 丰度比为 100:78:23.2)

图 5.2 11 种有机氯农药质谱图

Figure 5.2 Mass Spectra of 11 OCPs

扰。因此,利用气相色谱-质谱选择离子法来进行确证是解决问题的有效手段之一。

首先,选取 11 种有机氯农药混合标准储备溶液通过全扫描方式(GC-MSD/SCAN)做出总离子流图(TIC),然后根据各自质谱图中的碎片离子先后选择丰度较高、分子量较大的碎片离子作为每种农药超标确证的特征目标监测离子。确证时,可根据待测超标检出物中碎片离子的种类和丰度比作为其超标判别的依据。经试验,11 种化合物的特征目标监测离子确证测定灵敏度高,选择性好,干扰物少,判别结果准确可靠。

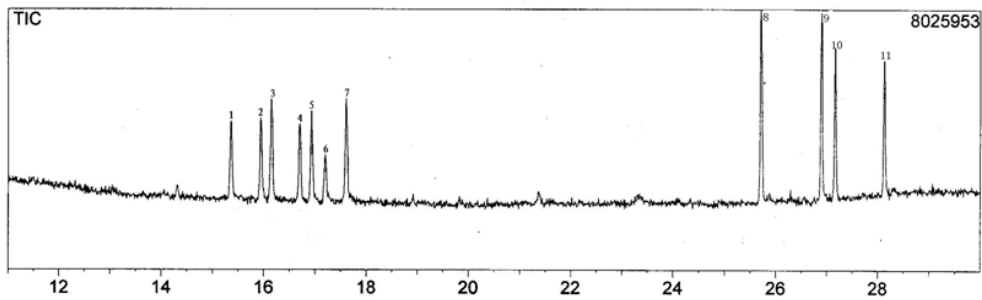


图 5.3 11 种有机氯农药混合标准物总离子流图（SPME 萃取头：100 μ m PDMS）
Figure 5.3 Total ion current chart of 11 OCPs standards（SPME fiber with 100 μ mPDMS）

1 α -HCH 2 β -HCH 3 HCB 4 γ -HCH 5 δ -HCH 6 Quintozene
7 Chlorothalonil 8 *pp'*-DDE 9 *pp'*-DDD 10 *op'*-DDT 11 *pp'*-DDT

5.2.5 方法检出限

表 5.3 11 种有机氯农药 SPE-SPME-GC/MS 方法检测出限

Figure 5.3 Detection limits of 11 OCPs using SPE-SPME-GC/MS determination

农药	α -HCH	β -HCH	γ -HCH	δ -HCH	Quintozene	HCB
检出限 (μ g/L)	200	800	200	500	400	600
	chlorothalonil	<i>op'</i> -DDT	<i>pp'</i> -DDT	<i>pp'</i> -DDD	<i>pp'</i> -DDE	
	900	0.09	0.08	0.02	0.6	

5.2.6 方法回收率与精密度

在样品基质中，添加已知目标物进行回收实验，是验证分析方法可靠性的重要手段。本实验采用在人参粉末中定量加入有机氯农药的混合标准溶液，按照本实验建立的方法，制备加标样品的提取液，进行 GC-MS 测定。

分别对三个添加水平的加标样品进行测定，计算回收率，结果见表 5.4。按照 5.1.2.2 的实验步骤，对人参样品的三个添加水平进行方法回收率实验，结果见表 5.4。11 种有机氯化合物在 0.01 μ g/mL 的添加水平，平均回收率为 74%~108%，变异系数为 13.22~22.21%；在 0.05 μ g/mL 的添加水平，平均回收率为 76%~93%，变异系数为 11.67~33.36%；在 0.1 μ g/mL 的添加水平，平均回收率为 86%~99%，变异系数为 7.2~35.10%。在超声波提取-磺化法中，其它物质在 0.01 μ g/mL 的添加水平，平均回收率为 73%~109%，变异系数为 8.94~15.89%；在 0.05 μ g/mL 的添加水平，平均回收率为 81%~103%，变异系数为 8.33~24.59%；在 0.1 μ g/mL 的添加水平，平均回收率为 87%~98%，变异系数为 2.42~16.19%。11 种化合物的添加回收率和精密度均能满足农药残留测定标准。而且对采用磺化法不能有效净化的百菌清，该法对它的添加回收率和精密度都显著好于传统方法。

表 5.4 人參样品中有机氯农药的添加回收率、精密度 (SPE-SPME-GC/MS 法)

Table 5.4 Recoveries and precisions of OCPs from Panax Ginseng (SPE-SPME-GC/MS)

序号 No.	农药 Pesticides	平均本底浓度 Average Blank (mg/kg)	添加浓度 Spiked (mg/kg)	平均回收率 Average Recovery (%)	变异系数 CV %
1	HCB	0.0016	0.01	90	12.03
			0.05	91	8.33
			0.1	88	2.42
			0.01	103	22.21
2	α -HCH	0.0109	0.05	82	13.36
			0.1	94	6.56
			0.01	106	17.07
			0.05	93	8.85
3	Quintozene	0.0351	0.1	90	3.91
			0.01	81	15.89
			0.05	76	8.57
			0.1	86	3.30
4	γ -HCH	0.0061	0.01	74	16.59
			0.05	82	12.38
			0.1	92	6.79
			0.01	108	19.53
5	百菌清	-	0.05	80	13.47
			0.1	96	6.88
			0.01	82	10.69
			0.05	84	16.27
6	β -HCH	-	0.1	89	5.10
			0.01	76	18.24
			0.05	83	24.17
			0.1	92	8.06
7	δ -HCH	0.0273	0.01	90	16.79
			0.05	88	8.60
			0.1	99	6.11
			0.01	102	18.13
8	<i>pp'</i> -DDE	0.0169	0.05	82	11.67
			0.1	91	16.19
			0.01	76	13.22
			0.05	79	24.59
9	<i>op'</i> -DDT	-	0.1	90	7.20
			0.05		
			0.01		
			0.05		
10	<i>pp'</i> -DDD	0.0059	0.05		
			0.1		
			0.01		
			0.05		
11	<i>pp'</i> -DDT	0.0168	0.05		
			0.1		
			0.01		
			0.05		

5.2.7 实际样品的分析

对实际未添加的人参样品进行 SIM 方式的测定，在百菌清、 β -HCH、 op' -DDT 三种物质的选择离子区段，没有特征选择目标离子的出现，证明样品中不含有这三种物质。

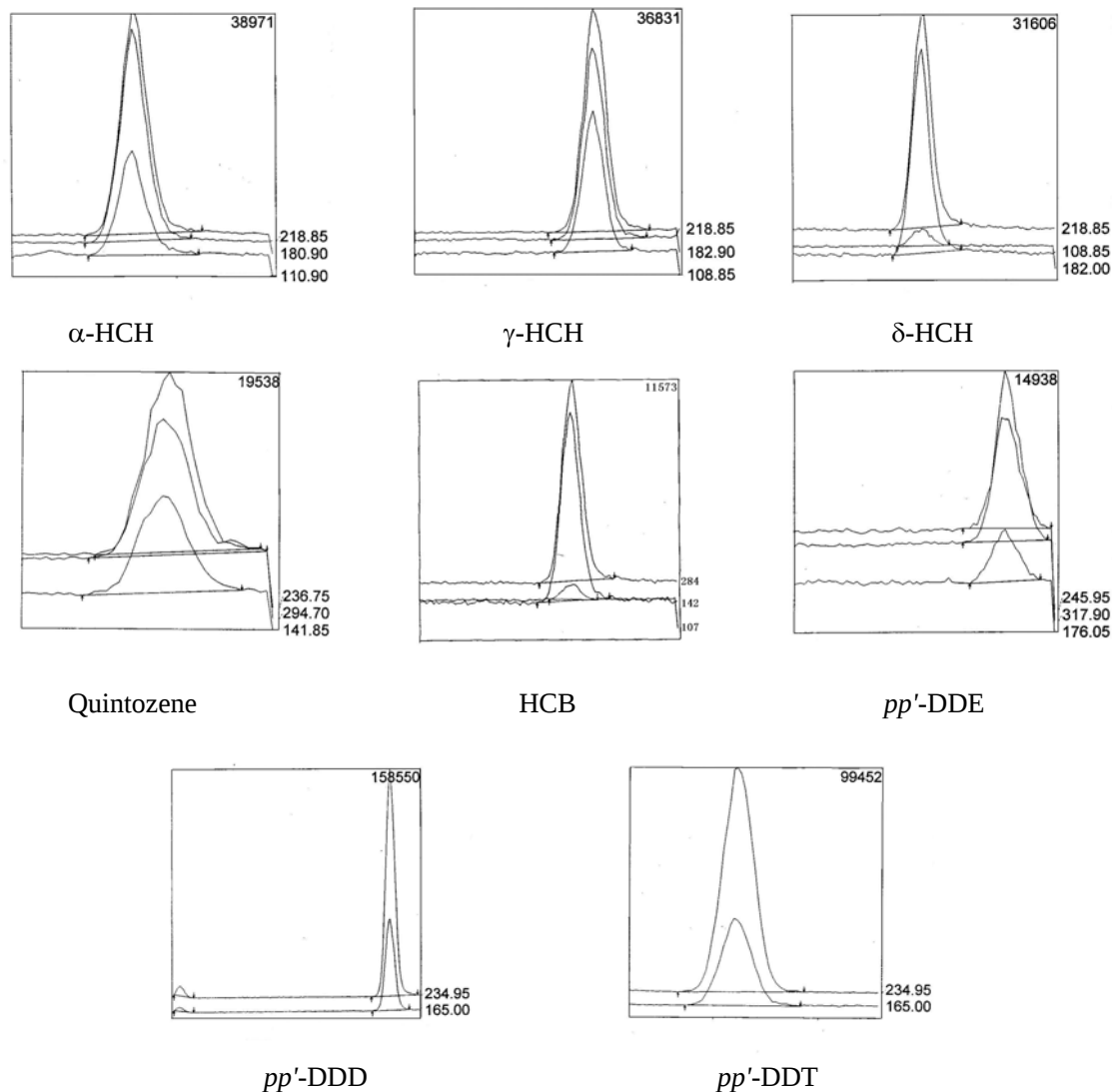


图 5.4 八种物质 SIM 监测图

Figure 5.4 Monitoring charts of 8 OCPs under SIM mode

5.3 讨论

SPE 和 SPME 都是相对较新的样品前处理技术,本方法以 SPE-SPME 联用作为样品前处理方法是一种新的尝试,也是针对人参这种具有复杂化学成分的样品基体和检测需要所特殊设计的。单纯采用二者中的任何一种,都不能满足测定的需要。首先对于 SPE 而言,虽然采用单个或串联 SPE 柱对样品的净化能够达到上机测定的需要,但 SPE 的富集作用仍然不能使待测液浓度达到 GC/MS 灵敏度的要求,而 SPME 无溶剂进样的特点恰恰可以使待测物质在无溶剂存在的条件下,使进入色谱柱和检测器的物质全部为待测物,从而使 GC/MS 能够对低浓度组分有响应。对于 SPME 来讲,它的提取、净化和浓缩作用主要体现在对水样的分析中。如果 SPME 的萃取对象是人参样品的乙腈-水提取液,不仅会使性质与有机氯化合物相似的杂质组分一同被吸附到 SPME 上,从而影响气谱测定,而且这种相对“较脏”的样品液会严重影响 SPME 萃取头的寿命。在 SPME 的应用中,对固体样品,特别是生物性固体样品的直接应用,只能采用顶空萃取。然而有机氯化合物属于低挥发性物质,残留于人参中多年的有机氯农药不可能挥发到样品的顶空部位。即便是在加热的条件下,这些物质也不可能从人参样品中挥发出来,而且过高的温度会导致人参样品变焦和有机氯样品的分解。

第六章 结 论

1、对本实验涉及的有机氯化合物，如果采用磺化法作为净化方法，势必造成百菌清的损失，以致不能准确分析。对每种化合物都适用的净化方法是 SPE 和 SPME。

2、通过对水相中有机氯化合物 SPME 热力学和动力学研究，摸索出 SPME 吸附与解析最佳条件。即在中速搅拌和无盐条件下，采用 100 μ m 聚二甲基硅烷（PDMS）SPME 萃取头对水溶液中的 11 种有机氯化合物进行 60min 直接萃取；在温度为 280 $^{\circ}$ C 条件下，解析 2min，使待测有机氯化合物全部解析。为防止前次萃取残留物影响下一次的萃取，采取 250 $^{\circ}$ C 条件下热解析 3min 以除去残留杂质。采用 0.8mm 内径内衬管以加大载气流速从而使待测物质迅速转移至色谱柱，防止了色谱峰的拖尾。在这样的条件下，可以保证水相中有机氯农药在 SPME 上的有效吸附和 SPME 纤维萃取头在 GC/MS 进样口处的彻底解析。掌握上述条件会在下一步的对人参样品提取液中有机氯化合物的 SPME 具有指导意义。

3、该方法采用乙腈-水（V/V=65：35）混合溶剂超声波提取人参样品中的 11 种有机氯化合物，提取液经过反相 C₁₈ SPE 柱净化后，以丙酮-水（V/V=90：10）混合溶剂洗脱。洗脱液经旋转蒸发掉全部丙酮后，进行 SPME 的选择性富集，以无溶剂的进样方式进入色谱柱。采用 DB-1 毛细管色谱柱，程序升温分离 11 种化合物。根据所选择的每种化合物的特征目标监测离子，在质谱选择监测离子（SIM）方式下，对每种化合物进行定性、定量测定。

参 考 文 献

- 1 Yolanda Pico, Estefania Viana, Guillermina Font, and Jordi Manes., Determination of Organochlorine Pesticides Content in Human Milk and Infant Formulas Using Solid Phase Extraction and Capillary Gas Chromatography, *J.Agric.Food Chem.*, 1995,43:1610-1615
- 2 Marvin L.Hopper, Improved Method for Partition of Organophosphate Pesticide Residues on a solid Phase Partition Column, *J.AOAC Int.*,1988,71:731-734
- 3 王建华, 焦 奎等. 高效液相色谱电化学安培法同时测定大米中 4 种氨基甲酸酯农药残留量. *分析测试学报*, 1998,17: 28-30
- 4 黄雅俊, 刘光明等. 毛细管气相色谱法测定茶叶中多种常用农药的残留. *农药科学与管理*, 2000, 21: 18-20
- 5 US Food and Drug Administration (FDA,1997):Pesticide analytical manual. Volume I: Multiresidue Methods.
- 6 James E.Conaway, New Trends in Analytical Technology and Methods for Pesticide Residues Analysis, *J.AOAC. Int.*,1991,3:715-717
- 7 F.J.Schenck,et al., Screening of Organochlorine Pesticide and Polychlorinated Biphenyl Residues in Nonfatty Seafood Products by Tandem Solid-Phase Extraction Cleanup. *J.AOAC Int.*1994,77:102~106
- 8 A.A.Boyd-Boland,S.Magdic and J.B.Pawliszyn, Simultaneous Determination of 60 Pesticides in Water Using Solid Phase Microextraction and Gas Chromatography-Mass Spectrometry,*Analyst*,1996,121:929~938
- 9 K.Jinno,T.Muramatsu,Y.Saito,S.Magdic,J.Pawliszyn,Analysis of Pesticides in Environmental water samples by solid phase microextraction-high performance liquid chromatography, *J.Chromatogr .A*,1996,754:137~144
- 10 S.J.Lehotay,et al., Development of a Sample Preparation on Technique for Supercritical Fluid Extraction for Multiresidue Analysis of Pesticides in Produce,*J.AOAC Int.*1995,78:831~840
- 11 Anne D.Lucas,Shirley J.Gee et al, Intergration of Immunochemical Methods with Other Analytical Techniques for Pesticide Residue Determination, *J.AOAC.Int.*, 1995,78::585-589
- 12 沈一行, 朱玉香, 宋洪涛等. 敌克松对两种曼陀罗生物碱含量的影响, *中药材*,, 1993, 16(3): 7
- 13 Smith, A. G. Chlorinated Hydrocarbon Insecticides. In *Handbook of Pesticide Toxicology*. Hayes, W. J., Jr.and Laws, E. R., Jr., Eds. Academic Press Inc., New York, NY, 1991.6-3
- 14 Matsumura, F. *Toxicology of Insecticides*, Second Edition. Plenum Press, New York, NY, 1985.6-4
- 15 Kidd, H. and James, D. R., Eds. *The Agrochemicals Handbook*, Third Edition. Royal Society of

- Chemistry Information Services, Cambridge, UK, 1991 (as updated).6-10
- 16 Howard, P. H., Ed. Handbook of Environmental Fate and Exposure Data for Organic Chemicals. Pesticides. Lewis Publishers, Chelsea, MI, 1991.6-13
 - 17 U.S. National Library of Medicine. Hazardous Substances Data Bank. Bethesda, MD, 1995.6-18
 - 18 Johnson, W. W. and Finley, M. T. Handbook of Acute Toxicity of Chemicals to Fish and Aquatic Invertebrates, Resource Publication 137. U.S. Department of Interior, Fish and Wildlife Service, Washington, DC, 1980.6-56
 - 19 Agency for Toxic Substances and Diseases Registry (ATSDR)/US Public Health Service, Toxicological Profile for 4,4'-DDT, 4,4'-DDE, 4, 4'-DDD (Update). 1994. ATSDR. Atlanta, GA.
 - 20 Leoni,V.,Fabiani,L., and Marinelli,G. 1989. PCB and other organochlorines in blood of women with or without miscarriage: A hypothesis of correlation , Ecotoxicol. Environ. Safety 17:1-11
 - 21 Garabrant, D.H., Held, J., Langholz, B., Peters, J.M. and Mack, T.M. DDT and related compounds and risk of pancreatic cancer, J Natl Cancer Inst. 84:764-771.
 - 22 Edwards, I. R., Ferry, D. G. and Temple, W. A. Fungicides and related compounds. In Handbook of Pesticide Toxicology. Hayes, W. J., Jr. and Laws, E. R., Jr., Eds. Academic Press, New York, NY, 1991.6-8
 - 23 U.S. Environmental Protection Agency. Chlorothalonil Health Advisory. Draft Report. Office of Drinking Water, Washington, DC, 1987.6-36
 - 24 Chin, B. H., Heilman, R. D., Bachand, R. T., Chernenko, G., Barrowman, J. Absorption and biliary excretion of chlorothalonil and its metabolites in the rat. Toxicol. Lett. 5(1): 150, 1980.6-39
 - 25 U.S. Agency for Toxic Substance and Diseases Registry. Toxicological Profile for Hexachlorobenzene (Update) Draft for Public Comment. Atlanta, GA, 1994.6-60
 - 26 Beall, M. L., Jr. Persistence of Aerially Applied Hexachlorobenzene on Grass and Soil. J. Environ. Qual. 5(4): 367-369, 1976.6-63
 - 27 U.S. Agency for Toxic Substance and Diseases Registry. Toxicological Profile for Pentachlorophenol. Draft Report. Atlanta, GA, 1992
 - 28 T.R.Shepherd and J.D.Care.Improved Method for Partition of Organophosphate Pesticide Residues on a Solid Phase Partition Column, J.AOAC Int.1988,71:731-734
 - 29 P.T.Holland,et al.,Multiresidue Analysis of Pesticides in Wines by Solid-Phase Extraction,J.AOAC Int.1994,77:79~86
 - 30 F.J.Schenck,et al .,Screening Procedure for Organochlorine and Organophosphorus Pesticide Residues in Eggs Using a Solid-Phase Extraction on Cleanup and Gas Chromatography Detection,J.AOAC Int.1994,77:1036~1040
 - 31 C.L.Arthur and J.Pawliszyn, Solid Phase Microextraction with Thermal Desorption Using Fused Silica Optical Fibers, Anal.Chem.,1990,62: 2145-2148
 - 32 D.Louch, S.Motlagh, J.Pawliszyn, Dynamics of Organic Compound Extraction from Water Using Liquid-Coated Fused Silica Fibers, Anal.Chem.,1992,64:1187-1199
 - 33 Z.Zhang, J.Pawliszyn, Headspace Solid Phase Microextraction, Anal. Chem.,1993,65:1843-1852

- 34 R.Eisert, K.J.Levsen, Determination of Organophosphorus, Triazine and 2,6-Dinitroaniline Pesticides in Aqueous Samples via Solid-Phase Microextraction and Gas Chromatography with Nitrogen-Phosphorus Detection, *Fresenius J. Anal. Chem.*, 1995, 315: 555-562
- 35 Eisert, Ralf, Gorecki, Tadeusz, Pawliszyn, Janusz. Pesticide Analysis by Solid Phase Microextraction, *Am. Environ. Lab.*, 1997, 9: 20-22
- 36 Steven B. Hawthorne, Carol B. Grabanski, Kimberly J., David J. Miller, Simple Method for Estimating Polychlorinated Biphenyl Concentrations on Soils and Sediments Using Subcritical Water Extraction Coupled with Solid Phase Microextraction, *J. Chromatogr. A*, 1998, 814: 151-160
- 37 Yu Yang, Steven B. Hawthorne, and David J. Miller, Class-Selective Extraction of Polar, Moderately Polar, and Nonpolar Organics from Hydrocarbon Wastes Using Subcritical Water, *Environ. Sci. Technol.*, 1997, 31: 430-437
- 38 S. Magdic, J. Pawliszyn, Analysis of Organochlorine Pesticides by Solid Phase Microextraction, *J. Chromatogr. A*, 1996, 723: 111-122
- 39 Gorecki, Tadeusz, Mindrup, Raymond, Pawliszyn, Janusz, Pesticides by Solid Phase Microextraction. Results of a Round Robin Test, *Analyst*, 1996, 121: 1381-1386
- 40 Choudhury, Tarun K, Gerhardt, Klaus O, Mawhinney, Thomas P, Solid Phase Microextraction of Nitrogen- and Phosphorus-Containing Pesticides from Water and Gas Chromatographic Analysis, *Environ. Sci. Technol.* 1996, 30: 3259-3265
- 41 Sng, MT., Lee, F.K., Lakso, H.A., Solid Phase Microextraction of Organophosphorus Pesticides from Water, *J. Chromatogr. A*, 1997, 759: 225-230
- 42 汪正范, 曹红, 朱希洪等, 安徽贡菊中药残留的测定, 第八次全国色谱学术报告会文集: 上册, 大连: 中国化学会色谱委员会、中国分析测试协会色谱分会、中国色谱学会, 1991, 129
- 43 曹志强, 杨凤媚, 陶进贤等, 薄层层析法定性分析人参茎叶中的农药残留量. 人参研究, 1992 (1): 26
- 44 李庆民, 张立军, 中草药, 鲜人参中有机农药六六六的检测. 1994, 25 (3): 163
- 45 赵晓松, 袁尔立, 孟亚黎等, 毛细管柱气相色谱法测定人参中五氯硝基苯残留量. 吉林农业大学学报, 1991, 13 (3): 45
- 46 范广平, 洪筱坤, 王智华等, 几种进口药材中有机氯类农药的残留分析. 中成药, 1996, 18 (11): 40
- 47 靖永谦, 张炯炯, 余虹雯等, 栽培中药材中有机氯农药残留量的测定. 中国药学杂志, 1989, 24: 529
- 48 郑友兰, 张崇喜, 李向高等, 国产西洋参与进口西洋参中有机氯农药残留的检测. 人参研究, 1993 (1): 18
- 49 王会丽, 陈建民, 张曙明, 黄芪、甘草中有机氯农药残留量的气相色谱检测. 药物分析杂志, 1998, 18 (5): 331
- 50 王会丽, 陈建民, 张曙明, 有机氯农药残留量的气相色谱检测方法研究. 中草药, 1998, 29 (6): 381
- 51 张甲生, 芦士香, 李晓进等, 人参中有机氯残毒量和砷、汞含量的检测. 人参研究,

- 1992 (4): 16
- 52 朱萱萱, 茅咏雯, 邱召娟等, 气相色谱法测定人参中残留有机氯农药的含量. 中国药学杂志, 1997, 32 (8): 484-486
- 53 周 燕, 刘 伟, 赵锐锋, 人参中有机氯农药的测定. 中草药, 1993, 24 (6): 304
- 54 袁 兰, 陈秋丽, 王雅丽等, 毛细管气相色谱法测定人参中五氯硝基本苯及六六六异构体残留量. 中草药, 1994, 25 (10): 519
- 55 王元鸿, 荣 会, 毛细管气相色谱法分析人参中有机氯农药残留量. 分析化学, 1994, 22 (9): 931
- 56 陈建民, 王晓光, 薛 健等, 西洋参中百菌清残留量的 GC 测定方法的研究, 药物分析杂志, 1995, 15: 32-35
- 57 陈瑞华, 张炯炯, 徐宏喜等, 农药百菌清在人参上的残毒研究. 中成药, 1992, 14: 13
- 58 R.Schwarzenbach, P.Gschwend, D.Imboden. Environmental Organic Chemistry.(John Wiley & Sons Inc., New York, 1993), pp.109-123

致 谢

本文是在导师范志先教授的悉心关怀指导下完成的。作者深深感谢导师三年来从论文设计、论文实施到论文的写作修改所倾注的大量心血。导师严谨求实的治学态度和勤奋钻研的科学精神给我留下了深刻的印象，并使我受益终生。

感谢逯忠斌教授、王春荣教授、赵晓松副教授为实验提出了许多宝贵建议和指导。感谢赵明宪教授、东北师范大学袁星副教授在论文定稿过程中给予的指导。

感谢吉林农业大学测试中心陈丹等全体老师三年来在实验条件的提供上所给予的大力支持。

此外，在整个实验过程中，一直得到师兄叶志强、谢文明、刘兴泉，师姐李月茹、刘燕萍的热情帮助，在此一并表示谢意！

最后对审阅和评议本论文及答辩委员会的全体专家、教授致以崇高的敬意和诚挚的感谢！

李 靖

二〇〇〇年五月

ABSTRACT

STUDIES ON MULTIRESIDUE ANALYTICAL METHOD OF ORGANOCHLORINE PESTICIDES IN PANAX GINSENG USING SPME-GC/MS

A multi-residue method was developed for the determination of organochlorine pesticides (α -HCH, β -HCH, γ -HCH, δ -HCH, *op'*-DDT, *pp'*-DDT, *pp'*-DDD, *pp'*-DDE, quintozone, HCB and chlorothalonil) in Panax Ginseng using solid phase microextraction and gas chromatography-mass spectrometry (GC/MS). Having been extracted by 65% acetonitrile-water mixed solvent under 30-min ultrasonic condition, the extractant was cleaned up by C₁₈ reversed phase SPE cartridge prior to SPME procedure.

The thermodynamics and kinetics of these OCPs in aqueous phase during SPME were studied firstly. The 100- μ m polydimethylsiloxane fiber was most efficient to extract these OCPs under stirring and no salt condition. The fiber was first dipped into the water sample for 60-min and directly introduced into the heated injector of the gas chromatography-mass spectrometer, where the residues are thermally desorbed under 2-min 280°C desorption condition. The 0.8mm-inner diameter insert is used to enhance the rate of carrier gas, and the residues may be transferred to the column immediately avoiding the tailing.

The limit of detection (SIM) depends on the compound and varies from 0.02~200 μ g/L. The method is linear over at least four orders of magnitude with coefficients of correlation usually ≥ 0.992 . Using SPME-GC/MS in the SIM mode with the characteristic ions for each compound may enhance selectivity. For Panax Ginseng, the mean recoveries and precisions at three spiked levels.

At a target limit of detection, SPME-GC/MS represents a very simple, fast, selective, and solvent-reduced multi-method for the extraction and determination of these OCPs. It allows an unequivocal identification and quantification at low levels of pesticides in Panax Ginseng sample.

Key Words: *Panax Ginseng, Organochlorine, Pesticide Residue, Solid Phase Microextraction (SPME), Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC/MS)*