

# 采用搅拌棒吸附萃取和热分离方法分析水中的农药

## 作者

Yun Zou 和 Suli Zhao  
安捷伦科技  
上海有限公司

## 应用简报

环境

## 摘要

本文通过使用配有 Agilent J&W DB-5ms 超高惰性低热容色谱柱模块的 Agilent 5975T LTM GC/MSD 成功分析了水样中的多种农药，样品前处理采用搅拌棒吸附萃取和安捷伦热分离进样杆。该方法简便、快速、高效，对大多数目标农药呈现出良好的线性 ( $R^2 > 0.9914$ ) 和高灵敏度。

## 前言

环境样品中痕量农残的检测需要一种高效的样品前处理和分析方法。对于水样，传统萃取方法需要 1 到 2 L 样品才能获得足够的农残进行分析。这些传统的样品前处理技术所采用的萃取和富集步骤较为繁琐、耗时、耗费人力并且需要使用大量有机溶剂。

1999 年推出的不使用有机溶剂的样品前处理方法——搅拌棒吸附萃取 (SBSE) 可用于从水基质中萃取和富集有机化合物 [1]。该方法基于吸附萃取原理，可以将分析物萃取到磁力搅拌棒的聚合物涂层上。萃取结果取决于分析物在聚合物涂层和样品基质间的分配系数以及聚合物涂层与样品量间的相比。聚二甲硅氧烷涂层和水样品之间的分配系数与辛醇-水的分配系数类似。该技术已经成功应用于环境、生物医药和食品应用领域的痕量分析 [2,3,4]。



**Agilent Technologies**

安捷伦气相色谱进样采用的热分离进样杆 (TSP) 是一种能够最大程度减少样品前处理步骤的技术, 可为复杂基质提供可靠的分析方法。

将 SBSE 和 TSP 联合使用已被证明是一种快速、高效、无溶剂使用的样品前处理方法。因此, 根据安捷伦日本肯定列表农药解决方案, 这些技术已被应用在 Agilent 5975T LTM GC/MSD 系统上进行水中农药鉴定方法的开发 [5]。

## 材料与amp;方法

所有试剂和溶剂均为 HPLC 级。农药标样和磷酸三苯酯内标 (TPP) 由内部客户提供。采用配备分流/不分流进样口的 Agilent 5975T LTM GC/MSD 系统进行分析。TSP 连接在气相色谱分流/不分流进样口上。

### 气相色谱条件

分析柱:	Agilent J&W DB-5ms 超高惰性 LTM, 30 m × 0.25 mm, 0.25 μm (部件号 G3900-63005)
保护柱:	0.5 m 长, 与分析柱同相, 连接至进样器
载气:	氦气, 恒流模式, 1.0 mL/min
LTM 柱温箱温度:	50 °C 保持 1 min, 以 25 °C/min 升温至 125 °C, 再以 10 °C/min 升温至 300 °C, 保持 10 min
进样口:	250 °C, 分流比 10:1
进样量:	1 μL
保留时间锁定:	甲基毒死蜱锁定于 13.443 min

### MSD 条件

离子源温度:	230 °C
四极杆温度:	150 °C
离子化模式:	EI 模式, 70 eV
采集模式:	Scan/SIM, 全扫描, <i>m/z</i> 45 到 550
传输线温度:	280 °C
溶剂延迟:	3 min
探头:	安捷伦热分离进样杆 (部件号 G4381A)
衬管:	带玻璃毛的超高惰性衬管, 低压降 (部件号 5190-2295)
涂覆有 24 μL PDMS 的搅拌棒:	Twister, GERSTEL GmbH, 涂层厚度: 0.5 mm; 长度: 10 mm

### 样品前处理

将 40 mL 的水样和 60 μL 的内标加标溶液转移至 50 mL 离心管中。然后加入搅拌棒 (Twister), 并采用螺纹盖密封离心管。SBSE 在室温下操作 35 分钟, 搅拌速度为 1500 rpm。萃取结束后, 搅拌棒用镊子夹出, 短暂浸入 Milli-Q 纯水后, 用不起毛棉纸擦干, 置于 TSP 微量瓶中。加标样品以同样方法进行处理。

## 结果与amp;讨论

本文研究的农药包括有机氯、有机磷和拟除虫菊酯农药 (表 1)。图 1 为基质空白和 25 μg/L 加标水样的总离子流图 (TIC)。在基质空白的总离子流图中, 没有色谱峰干扰目标分析物。所有目标农药在 DB-5ms 超高惰性 LTM 色谱柱模块上得到完全分离。

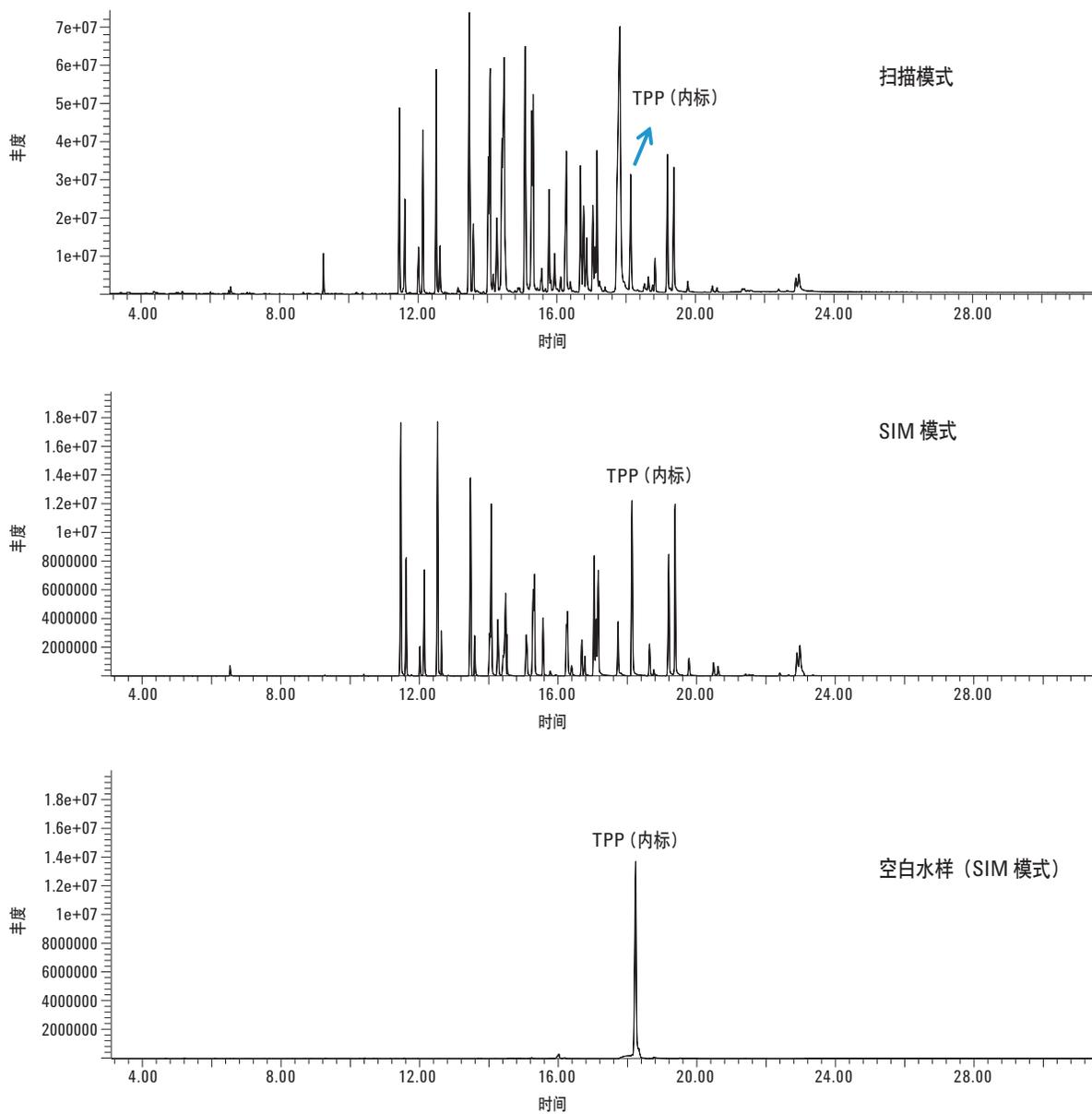


图 1. 空白水样和加标水样 (25  $\mu\text{g/L}$  农药) 的总离子流图 (TIC)

表 1. 所研究的农药和相应的辛醇-水分配系数 ( $\log K_{ow}$ )、选定的测定离子、理论回收率、实际回收率、线性和方法检出限 (MDL)

保留时间 (min)	化合物	Log $K_{ow}$	$m/z$	理论回收率 (%)	回收率 (%)	$R^2$	MDL ( $\mu\text{g/L}$ )
6.536	敌敌畏	1.90	109	4.55	4.18	0.9953	0.03
11.457	$\alpha$ -BHC	3.82	181	79.86	48.15	0.9994	0.05
11.609	六氯苯	3.93	284	83.62	42.36	0.9934	0.06
11.723	阿特拉通	2.69	211	22.71	38.91	0.9950	1.28
11.829	西玛津	2.30	201	10.69	12.75	0.9999	1.30
11.946	阿特拉津	2.70	200	23.12	23.87	0.9964	0.85
12.010	$\beta$ -BHC	4.26	181	75.90	67.47	0.9959	0.16
12.042	扑灭津	3.95	214	84.25	69.45	0.9975	1.06
12.131	$\gamma$ -BHC	3.68	181	74.17	54.67	0.9990	0.20
12.257	特丁津	3.40	214	60.11	38.60	0.9988	0.95
12.513	二嗪农	3.69	179	74.61	69.98	0.9986	0.21
12.638	$\delta$ -BHC	3.68	181	74.17	47.97	0.9972	0.20
12.651	密草通	3.64	196	72.37	48.79	0.9936	1.01
13.442	乙烯菌核利	3.02	212	38.59	53.53	0.9961	0.26
13.447	甲基对硫磷	3.00	263	37.50	44.42	0.9914	0.16
13.449	甲基毒死蜱	4.00	286	85.71	67.90	0.9980	0.23
13.517	西草净	2.80	213	27.46	17.54	0.9998	1.15
13.587	七氯	5.44	272	99.40	79.59	0.9941	0.09
13.617	莠灭净	2.63	227	20.38	15.13	0.9976	1.50
13.701	扑草净	3.34	241	56.76	33.25	0.9994	0.69
13.946	去草净	3.66	226	73.28	54.90	0.9997	0.92
14.010	杀螟松	3.32	260	55.63	64.58	0.9976	0.13
14.051	甲基嘧啶磷	3.90	290	82.66	68.61	0.9989	0.47
14.232	马拉松	2.75	173	25.23	37.66	0.9992	0.37
14.272	艾试剂	6.50	263	99.95	89.64	0.9930	0.11
14.385	倍硫磷	4.84	279	97.65	83.18	0.9968	0.42
14.430	毒死蜱	4.70	197	96.78	90.44	0.9958	0.22
14.450	对硫磷	3.83	291	80.22	72.48	0.9984	0.28
15.027	二甲戊乐灵	5.20	162	98.96	82.94	0.9972	0.10
15.057	七氯环氧化物	4.24	81	91.25	92.74	0.9993	0.28
15.070	氧化氯丹	5.48	185	99.45	98.24	0.9989	0.15
15.246	异柳磷	4.04	213	86.81	73.57	0.9994	0.25
15.288	嗉硫磷	4.44	146	94.29	82.68	0.9993	0.32
15.555	杀扑磷	2.57	145	18.23	27.66	0.9995	0.18
16.238	$p,p'$ -DDE	6.00	246	99.83	29.11	0.9994	0.25
16.263	狄氏剂	3.70	79	75.04	79.79	0.9988	0.20
16.390	腈菌唑	2.89	179	31.78	44.00	0.9961	0.51
16.677	异狄氏剂	3.20	263	48.74	51.78	0.9993	0.23
16.754	溴虫腈	4.83	59	97.59	105.34	0.9956	0.15
17.031	DDD- $p,p'$	5.87	235	99.78	75.32	0.9951	0.17
17.093	$p,p'$ -DDT'	6.91	235	99.98	74.75	0.9959	0.23
17.146	乙硫磷	5.07	231	98.60	89.33	0.9982	0.06
17.733	$o,p'$ -DDT	6.70	235	99.97	75.54	0.9928	0.28

待续

保留时间 (min)	化合物	Log K <sub>ow</sub>	m/z	理论回收率 (%)	回收率 (%)	R <sup>2</sup>	MDL (µg/L)
18.641	亚胺硫磷	2.96	160	35.37	46.42	0.9973	0.30
18.769	联苯菊酯	6.60	181	99.96	80.53	0.9962	0.42
19.181	四氯杀螨砜	4.61	159	96.07	78.12	0.9991	0.30
19.371	伏杀磷	4.01	182	85.99	71.71	0.9997	0.07
19.788	三氟氯氰菊酯	6.80	181	99.97	108.57	0.9988	0.62
20.625	氯菊酯	6.10	183	99.87	80.88	0.9982	0.42
22.421	氰戊菊酯	5.01	125	98.40	88.82	0.9994	0.35
22.916	苯醚甲环唑 I	4.36	265	93.22	84.29	0.9972	0.47
23.364	溴氰菊酯	4.60	181	95.98	81.27	0.9973	0.56

磷酸三苯酯 (内标)

## 萃取时间

萃取时间是 SBSE 取样过程中的重要参数。通过分析上述流程处理的加标样品来评估其萃取有效性。图 2 显示了萃取时间与峰面积响应之间的关系。在 20 到 60 分钟之间，峰面积有大幅增加。这表明在搅拌棒与样品达到平衡之前，时间因素起关键作用。然而，当萃取时间大于 60 分钟后，大多数目标化合物已经达到平衡，因此，当萃取时间发生较小变化时，对定量结果也不会产生重大影响。通常可以将萃取时间选择为 60 分钟，然而在此应用中，由于灵敏度足够高，可选择萃取时间 35 分钟，以实现更快的分析速度和更高的分析通量。

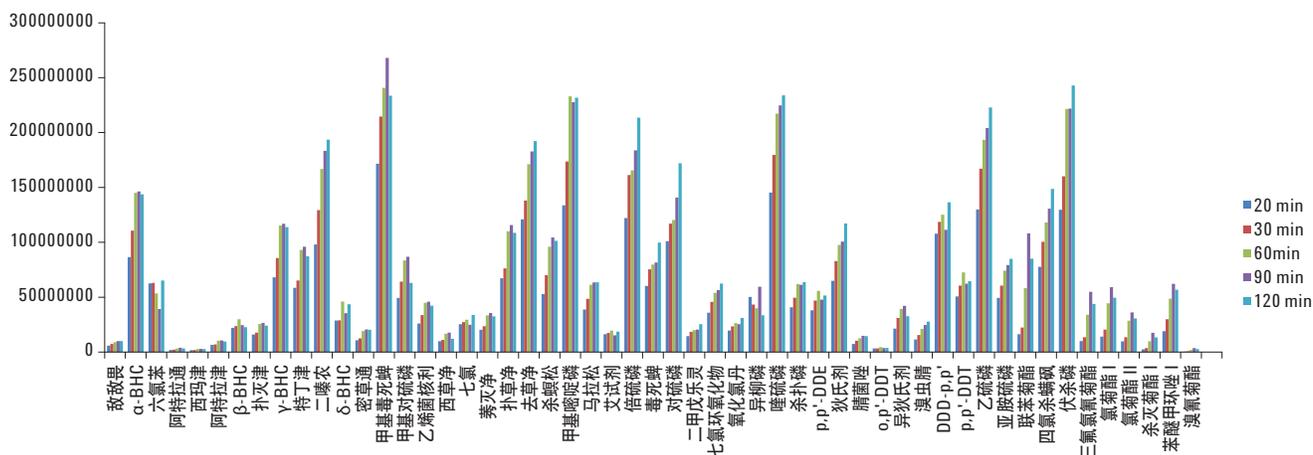


图 2. 萃取时间与峰面积响应之间的关系

## 分配效率和回收率

由于 SBSE 自身就是一种平衡技术，因此将分析物从水样中萃取到 PDMS 相中受到分配系数的制约。最近的研究将该体系的分配系数与辛醇-水的分配常数 ( $K_{OW}$ ) 相关联 [6]。表 1 列出了根据公式 1 估算出的回收率。通常情况下，实际回收率低于理论值。 $K_{OW}$  值较高的疏水化合物具有高回收率；相比之下， $K_{OW}$  值较低的亲水化合物（如极性农药）则具有低回收率。因此，大多数农药的回收率可以根据已知分析物的辛醇-水分配系数进行预测。该预测在实验开始之前可作为参考。

$$\frac{m_{SBSE}}{m_0} = \frac{\left[ \frac{K_{OW}}{\beta} \right]}{1 + \left[ \frac{K_{OW}}{\beta} \right]}$$

$m_{SBSE}$  = 待测物在 PDMS 上的吸附质量  
 $m_0$  = 待测物的初始质量  
 $K_{OW}$  = 辛醇-水分配系数  
 $\beta$  = 相比 = 样品体积/PDMS 体积

公式 1. 理论回收率的计算

## 加盐

已有报道称， $\log K_{OW}$  低于 4.0 的分析物通过加盐可以显著提高其回收率（SBSE 法，添加 30% NaCl）[7]。因此对添加 10% 到 40% NaCl 的 SBSE 方法的回收率进行评估。由于 PDMS 为非极性，不管是否添加盐，SBSE 方法都不能很好地萃取出  $\log K_{OW}$  低于 1.0 的分析物。例如甲胺磷 ( $\log K_{OW}$  0.79) 和高灭磷 ( $\log K_{OW}$  0.85)。然而有一些分析物的回收率却大幅增加，如敌敌畏 ( $\log K_{OW}$  1.90) 和腈菌唑 ( $\log K_{OW}$  2.89)，回收率分别增加了四倍和三倍。相对于不添加盐的 SBSE 方法， $\log K_{OW}$  接近或大于 4.0 的分析物的回收率会显著降低。尽管连续 SBSE 能够增加一些亲水化合物的回收率，但是仍然需要额外 30 到 60 分钟的萃取时间。由于 5975T LTM GC/MSD 用户对快速分析方法的需求，以及本研究中大多数目标化合物的  $\log K_{OW}$  接近或大于 4.0，因此在萃取过程中没有加入盐。

## 线性

有机氯和有机磷农药的线性校正范围为 0.8 到 25  $\mu\text{g/L}$ ；三嗪类农药线性校正范围为 1 到 50  $\mu\text{g/L}$ ；拟除虫菊酯农药线性校正范围

为 5 到 50  $\mu\text{g/L}$ 。以分析物的相对响应（分析物的峰面积/内标的峰面积）和分析物的相对浓度（分析物的浓度/内标的浓度）作图，绘制了六个不同浓度水平加标基质的校正曲线，15  $\mu\text{g/L}$  的 TPP 作为内标。所有化合物都获得了良好的线性，相关系数 ( $R^2$ ) 为 0.9914 到 0.9999。

## 方法检出限 (MDL)

方法检出限定义为“对给定含有分析物的基质样品进行分析，能以 99% 置信度测定的大于零的最低分析物浓度”。MDL 根据公式 2 计算得出。

$$MDL = t_{(n-1, 1-\alpha=0.99)} \times S$$

式中：

MDL = 方法检出限

$t_{(n-1, 1-\alpha=0.99)}$  = 自由度为  $n-1$ ，置信度为 99% 的 t 分布值

S = 重复分析的标准偏差

公式 2. 方法检出限的计算。

采用 MSD 的扫描模式进行检测。MDL 计算结果为 3.36 乘以标准偏差，该标准偏差通过六次重复分析最低校正浓度的不同农药计算得出。如表 1 所示，所得的 MDL 值较低，介于 0.03 到 1.50  $\mu\text{g/L}$  之间。

## 结论

本应用报告描述了使用安捷伦热分离进样杆和搅拌棒吸附萃取法在 Agilent 5975T LTM GC/MSD 上进行水样中农药快速、低成本的分析。安捷伦 TSP 与 SBSE 方法相结合，可提供一种萃取水样中代表性农药的简单、快速、高效的分析方法。安捷伦低热容气相色谱技术通过快速有效地加热和冷却色谱柱缩短了分析时间，从而显著缩短了分析周期。根据已知分析物的辛醇-水分配系数可以预测其回收率，该方法为农药分析提供良好的线性和低方法检出限。

## 参考文献

1. E. Baltussen, P. Sandra, F. David, C.A. Cramers.  
*J. Microcol. Sep.*, **11**, 737 (1999)
2. R. Rodil, P. Popp. *J. Chromatogr A*, **1124**, 82 (2006)
3. K. Desmet, B. Tienpont, P. Sandra. *Chromatographia*,  
**57**, **681** (2003)
4. N. Ochiai, K. Sasamoto, H. Kanda, S. Nakamura.  
*J. Chromatogr. A*, **1130**, 83 (2006)
5. P.L. Wylie., “使用日本肯定列表农药分析方法筛查食品中的农药：使用解卷积报告软件和保留时间锁定质谱数据库的 GC/MS 的优点”，*应用简报*，安捷伦科技公司，出版号 5989-7436CHCN (2007)
6. L.S. DeBruin, P.D. Josephy, J.B. Pawliszyn.  
*Anal. Chem.*, **70**, 1986 (1998)
7. N. Ochiai, K. Sasamoto, “采用 GC/MSD 通过连续搅拌棒吸附萃取 – 热脱附筛查水中的农药残留”，*应用简报*，安捷伦科技公司，出版号 5990-5217CHCN (2010)

## 更多信息

这些数据代表典型结果。有关我们的产品与服务的信息，请访问我们的网站 [www.agilent.com/chem/cn](http://www.agilent.com/chem/cn)

[www.agilent.com/chem/cn](http://www.agilent.com/chem/cn)

安捷伦不对本文可能存在的错误或由于提供、展示或使用本文所造成的间接损失承担任何责任。

本资料中的信息、说明和指标如有变更，恕不另行通知。

© 安捷伦科技（中国）有限公司，2014  
2014年3月21日，中国印刷  
5991-4264CHCN



**Agilent Technologies**