

## 微波萃取-高效液相色谱法测定稻谷中敌敌畏的残留量

汪涛,柴逸峰,范国荣,宓鹤鸣(第二军医大学药学院药物分析教研室,上海 200433)

**摘要** 目的:建立了微波辅助萃取-高效液相色谱法测定稻谷中敌敌畏残留量的方法。方法:以丙酮-乙腈(体积比 3:7)为提取剂,采用微波辅助萃取稻谷中残留的敌敌畏,经弗罗里硅土及中性氧化铝柱层析净化,以乙腈-水为流动相,流速 1.0 mL/min,200 nm 检测。结果:敌敌畏在 2.0-25.0 μg/mL 范围内呈良好的线性关系,检测限为 0.5 μg/mL,稻壳添加平均回收率为 81.1%,RSD 为 3.9%;糙米添加平均回收率为 78.9%,RSD 为 4.0%。结论:该方法简便、快速,可用于稻谷中敌敌畏残留量的测定。

**关键词** 微波辅助萃取;高效液相色谱法;敌敌畏;稻壳;糙米

中图分类号:R917 文献标识码:A 文章编号:1006-0111(2008)03-0194-03

### Determination of dichlorvos residue in rice by microwave-assisted extraction/HPLC

WANG Tao, CHAI Yi-feng, FAN Guo-rong, MI He-ming (Department of Pharmaceutical Analysis, School of Pharmacy, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China)

**ABSTRACT Objective:** To develop a method of microwave-assisted extraction (MAE) followed by HPLC for the determination of the residue of dichlorvos in rice. **Methods:** Pesticide residues were extracted from rice samples with a solvent mixture. Extracts were cleaned up with a column filled with Florisil and neutral aluminum oxide. Nova-Pak C<sub>18</sub> column (4 μm, 3.9 × 150 mm) was used with acetonitrile: water (30:70, V/V) solution as mobile phase, and the flow speed was 1.0 mL/min. The ultraviolet detection wavelength was 200 nm. **Results:** Good linear correlation for dichlorvos was found in the concentration range of 2.00 ~ 25.00 μg/mL. The detection limit was 0.5 μg/mL for dichlorvos (S/N = 3). The average recovery rate of rice hull and brown rice were 81.1% (RSD 3.9%) and 78.9% (RSD 4.0%), respectively. **Conclusion:** This method is simple and rapid. It can be used for the determination of dichlorvos residue in rice with satisfactory results.

**KEY WORDS** microwave-assisted extraction; HPLC; dichlorvos; rice hull; brown rice

敌敌畏 (dichlorvos) 是一种高效、广谱、中等毒性的有机磷杀虫剂,化学名为 2,2-二氯乙烯基二甲苯磷酸酯,分子式为 C<sub>4</sub>H<sub>7</sub>Cl<sub>2</sub>O<sub>4</sub>P。敌敌畏的熏蒸作用及触杀作用极强,它的作用特点是速效而击倒力强,常应用于农作物<sup>[1]</sup>。近几年农药残留量过高引起的食物中毒的发生率呈逐渐上升趋势,国际上因食品中农药残留超标而引发的纠纷也屡屡发生,因此农药残留问题越来越引起人们的关注,敌敌畏等有机磷农药的监测也随之越来越普遍。

食品中有机磷农药的样品处理方法较多,传统方法存在消耗剂量大和分析时间长等缺点,微波辅助萃取 (MAE) 技术快速、高效、操作简便、污染小,已被广泛用于有机污染物分析的样品预处理<sup>[2]</sup>。

对敌敌畏等有机磷农药的监测大多采用气相色谱法、薄层酶抑制法、化学发光法等,上述方法操作繁琐,实验条件要求高<sup>[3]</sup>。本研究建立了微波辅助

萃取-高效液相色谱法测定稻谷中的敌敌畏残留量的分析方法,探索出一个快速简便的方法,其精密度和回收率均较好,完全能满足日常检测工作的需要。

自古以来,中医就有所谓“药食同源”的观念,中药与食物一样来源于自然中的动、植物,而且很多中药与食物很难截然分开,可以说身兼两职,如粮食类中的药物,如谷芽、麦芽、淮小麦、浮小麦等,因此笔者欲通过建立稻谷中农药残留测定方法,以探索寻找出适合中药材中农药残留检测的方法。

### 1 仪器与材料

CW-2000型超声-微波协同萃取仪(新拓微波溶样测试技术有限公司); Waters HPLC系统,组成: Waters 515 HPLC Pump, Waters 996 Photodiode Array Detector, Millennium<sup>33</sup> 色谱管理系统; SENCO R系列旋转蒸发器(上海申生科技有限公司); DK-S22型电热恒温水浴锅(上海精宏实验设备有限公司); KUDOS SK5200 H超声波清洗器(上海科导超声仪器有限公司); JLMJ 磨米机(上海嘉定粮油仪器有限公司)。

作者简介:汪涛(1972-),女,主管药师,硕士。

通讯作者:宓鹤鸣。Tel: (021) 25070389 - 88, E-mail: mhm19470718@sina.com.

丙酮为分析纯(国药集团化学试剂有限公司), 甲醇、乙腈均为色谱纯(Fisher Scientific)。弗罗里硅土(Florisil<sup>®</sup> PR, 60-100目, 650 灼烧 4 h, 130 烘 4 h); 中性氧化铝(650 灼烧 4h, 130 烘 4 h, 以 2%的水失活); 无水硫酸钠(650 灼烧 4 h)。

农药标准品: 敌敌畏标准品由农业部环境保护科研监测所研制, 含量 100 μg/mL。

稻谷来自于上海崇明, 采样时间为 2006年 11月, 水稻收获期; 稻粒样品, 采集成熟稻穗, 为多点采集, 混合而成。

## 2 实验方法

**2.1 色谱条件的选择** 色谱柱为 Waters公司 Nova-Pak C18(150 mm × 3.9 mm, 4μm) HPLC Column; 流动相为乙腈-水溶液(30:70); 流速为 1.0 mL/min; 检测波长为 200 nm; 进样量为 10 μL; 柱温为室温。

### 2.2 供试液的制备

**2.2.1 样品的提取** 稻谷阴干, 经脱壳后, 分别收集糙米与稻壳, 再分别粉碎, 过 40目, 得糙米样与稻壳样, 备用。分别称取 10 g稻壳、糙米样品于 250 mL的萃取罐中, 加入 150 mL的丙酮-乙腈溶液(体积比为 3:7), 微波温度为 72 ℃, 辐射时间为 10 min, 超声为开启。微波加热结束后, 取出萃取罐, 冷却至常温, 萃取液过滤后在旋转蒸发仪上 40 ℃水浴浓缩至约 1 mL左右。

**2.2.2 样品的净化** 层析柱(25 cm × 1.5 cm)中自下而上装填: 3 g无水硫酸钠, 5 g弗罗里硅土, 2 g中性氧化铝, 3 g无水硫酸钠。用 20 mL丙酮预淋洗, 然后将浓缩液转移至柱中, 以 10 mL丙酮-甲醇(1:1)洗脱, 收集洗脱液经旋转蒸发仪 40 ℃水浴浓缩近干, 用乙腈定容至 1.0 mL, 待测。

**2.3 最低检测限试验** 精密量取标准品溶液 0.05 mL置 10 mL量瓶, 用乙腈稀释至刻度, 混匀。在上述色谱条件下, 重复进样 3次, 记录峰面积, 计算信噪比。

**2.4 线性关系考察** 分别精密吸取标准品溶液 0.2、0.5、1.0、2.0、2.5 mL, 各置 10 mL量瓶中, 加乙腈至刻度, 摇匀, 制成浓度为 2、5、10、20、25 μg/mL的溶液。在上述色谱条件下, 各重复进样 3次, 记录峰面积。以标准品峰面积 *Y*对质量浓度 *X*作图, 绘制标准曲线并计算回归方程。

**2.5 精密度试验** 取浓度为 10 μg/mL的标准品溶液 10 μL, 连续进样 6次, 记录峰面积。

**2.6 准确度(回收率)试验** 以未受农药污染的稻谷样品为本底, 分别添加相当于样品中含敌敌畏 0.5、1.0和 2.0 μg/g的标准溶液, 与样品处理相同, 在给定色谱条件下重复测定 3次, 记录峰面积。将峰面积代入回归方程, 计算回收率。

## 3 结果

**3.1 标准品色谱图** 空白样品色谱图与样品加标色谱图见图 1。

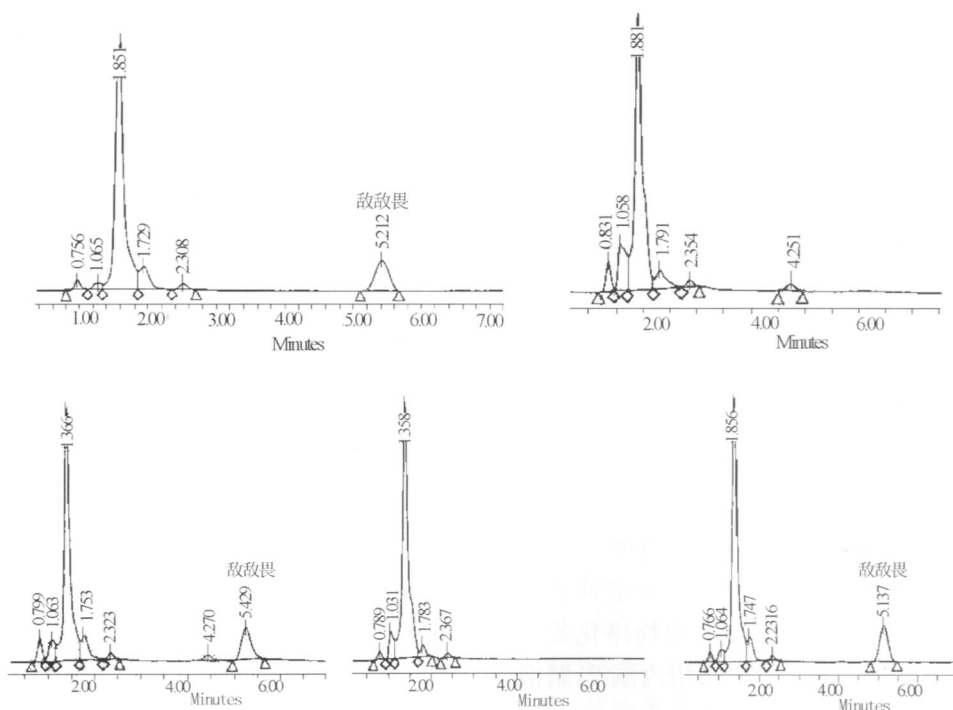


图 1 色谱图

A 敌敌畏标准品; B 稻壳空白样品; C 稻壳加标准品; D 糙米空白样品; E 糙米加标准品

3.2 最低检测限试验 该浓度条件下,平均信噪比为 3.0,表明该方法敌敌畏残留量的最低检测限为 0.50  $\mu\text{g/mL}$  (见表 1)。

表 1 敌敌畏标准品峰面积与信噪比

标准品浓度 ( $\mu\text{g/mL}$ )	峰面积	信噪比
0.50	7 869	3.2
0.50	7 234	2.8
0.50	7 556	3.1

### 3.3 标准曲线的制备 (见表 2)

表 2 敌敌畏标准品浓度与峰面积

标准品浓度 ( $\mu\text{g/mL}$ )	峰面积均值
25.00	382 630
20.00	323 272
10.00	160 089
5.00	84 164
2.00	35 072

敌敌畏的回归方程为  $Y = 153.33X + 6917.6$ ,  $r = 0.9991$ ,在 2.00 ~ 25.00  $\mu\text{g/mL}$  浓度范围内线性良好。

3.4 精密度试验 该浓度条件下,测得峰面积分别为 163 351, 157 509, 160 662, 161 383, 149 913, 165 500,峰面积平均为 161 386,  $RSD$  为 1.72% ( $n=6$ )。

3.5 准确度 (回收率) 试验 (见表 3,表 4)

表 3 稻壳加标平均回收率和精密度

(分析物:敌敌畏,  $n=3$ )

标准加入量 ( $\mu\text{g/g}$ )	测定值 ( $\mu\text{g/g}$ )	回收率 (%)	$RSD$ (%)
2.0	1.701		
2.0	1.634	84.9	3.6
2.0	1.756		
1.0	0.880		
1.0	0.802	83.7	4.8
1.0	0.828		
0.5	0.375		
0.5	0.387	74.9	3.5
0.5	0.361		

## 4 讨论

4.1 提取及纯化溶剂的选择 分别用甲醇、乙腈、丙酮、乙酸乙酯、二氯甲烷提取样品,结果表明乙腈和丙酮的提取效果最好。但丙酮提取物净化难度大,而乙腈提取物浓缩耗时长,故选用丙酮-乙腈混合溶液 (体积比为 3:7) 作为提取剂。

分别用正己烷-二氯甲烷 (体积比为 9:1),正

己烷-丙酮 (体积比为 6:4),丙酮-甲醇 (体积比为 1:1) 等体系来淋洗,因敌敌畏极性较大,前两种洗脱不完全,用丙酮-甲醇 (体积比为 1:1) 来淋洗,净化效果好,可得到较高的回收率。

表 4 糙米加标平均回收率和精密度

(分析物:敌敌畏,  $n=3$ )

标准加入量 ( $\mu\text{g/g}$ )	测定值 ( $\mu\text{g/g}$ )	回收率 (%)	$RSD$ (%)
2.0	1.589		
2.0	1.626	78.6	4.1
2.0	1.501		
1.0	0.788		
1.0	0.811	81.5	3.6
1.0	0.846		
0.5	0.394		
0.5	0.364	76.6	4.3
0.5	0.391		

4.2 色谱条件的选择 敌敌畏标准品溶液经 DAD 在线紫外扫描,在 200 nm 处有最大吸收,在所用色谱条件下,基线平稳,因此本法采用 200 nm 作为检测波长。

选用不同浓度的乙腈-水溶液作为流动相,敌敌畏峰的保留时间发生较大变化,结果发现在乙腈:水 (30:70) 条件下,基线稳定,分离良好,保留时间较短。

流动相分别以 0.8、1.0、1.2 mL/min 的流速进行洗脱时,流速越大,灵敏度越高,但出峰太快,难与杂质峰分离。实验结果显示,在 1.0 mL/min 流量下,体积比为 30:70 的乙腈-水溶液对敌敌畏的检测较理想。

4.3 实际样品分析 采用了上述方法测定了 5 份市场大米样品,其中 1 份样品中敌敌畏残留量为 0.08  $\mu\text{g/g}$ ,没有超过国家标准,其他样品并未检出。

## 5 结论

应用微波辅助萃取-高效液相色谱法分析检测稻谷中的敌敌畏,具有分析时间短、结果稳定、准确、灵敏且简单易行的特点,其最低检测限低于国家规定的最大残留限量,各项指标均符合农药残留测定所允许的范围内。同时,本文的工作为检测粮食和中药材里的敌敌畏农药残留量提供了科学依据。

## 参考文献:

- [1] 郑现敏. 新编实用农药手册 [M]. 河南:科学技术出版社, 1994: 36.
- [2] 王玉枝,董玲,崔钥,等. 微波萃取气相色谱法测定大米中的有机磷农药 [J]. 湖南大学学报, 2007, 34 (2): 64.
- [3] 李蓉,周光明,王绍云,等. 蔬菜中敌敌畏残留量的反相高效液相色谱法测定 [J]. 贵阳医学院学报, 2006, 31 (1): 58.

收稿日期: 2007-11-05