

# 分散液相微萃取 气相色谱联用技术 快速测定胃内容物中有机磷农药

Rapid determination of organophosphorus pesticides in the gastric contents by  
dispersive liquid-liquid microextraction-gas chromatography

滕军

TENG Jun

(贵阳医学院公共卫生学院, 贵州 贵阳 550004)

**摘要:** 常温下, 于 3~5 g 胃内容物中加入 5 mL 纯水, 1 mL 丙酮, 0.2~0.4 mL 萃取剂, 萃取 2 min 后, 静置 2 min 吸取萃取剂用气相色谱法进行定性; 结果在选定条件下, 与公安部行业标准 GA/T101-1995《中毒检材中有机磷农药的定性定量分析方法》中气相色谱法比较, 样品前处理由原来的至少 2 h 缩短为 6 min 有机磷农药检出限: 敌敌畏 0.8 μg/g, 乐果 2.5 μg/g, 马拉硫磷 1.5 μg/g。该方法操作简单、省时、对环境友好, 可快速测定胃内容物中有机磷农药。

**关键词:** 分散液相微萃取; 气相色谱法; 有机磷农药; 胃内容物

中图分类号: R139.3 R446.69 文献标识码: B

文章编号: 1002-221X(2009)05-0385-03

农药的发明和使用大大提高了农作物的产量, 有机磷农药 (organophosphorus pesticides, OPs) 在保障农作物产量方面做出了很大贡献, 但随着农药的大量和不科学的使用, 有机磷农药造成的中毒事件比其他任何农药都频繁、严重。目前, 应用于有机磷农药快速检测的方法主要有: 酶抑制法<sup>[1,2]</sup>、酶免疫分析法<sup>[3]</sup>、化学发光法<sup>[4,5]</sup>和生物传感法<sup>[6,7]</sup>等。这些方法在环境、食品监测方面得到了广泛应用, 而胃内容物中有机磷农药的快速测定未见报道。

胃内容物中提取有机磷农药的常用方法有: 液相萃取、固相萃取、预空固相微萃取<sup>[8-10]</sup>等技术。液相萃取法和固相萃取法具有溶剂用量大、处理时间长、操作步骤繁琐等缺点, 不仅容易损失样品组分, 产生误差, 而且有毒溶剂的大量使用对操作人员的健康和周边环境均有影响。Rezaee 等于 2006 年首次报道了分散液相微萃取 (dispersive liquid-liquid microextraction, DLLME) 技术。分散液相微萃取技术克服了传统液相萃取和固相萃取技术的诸多不足, 大大缩短了样品前处理时间。与固相微萃取法相比, 由于 DLLME 技术不需要特殊的器材, 操作简单, 也越来越受到分析工作者的关注。DLLME 技术用于胃内容物中有机磷农药的提取在国内还未见报道。本实验采用 DLLME 与气相色谱法 (gas chromatography, GC) 相结合建立了胃内容物中有机磷农药快速测定的

新方法。

## 1 材料与与方法

### 1.1 仪器与试剂

AG285 型电子天平 (Switzerland METTLER TOLEDO), GC-2010 型气相色谱仪 (日本 SHIMADZU), 配有火焰离子化检测器 (FID), DB-1 石英毛细管色谱柱 (30 m × 0.25 mm × 0.25 μm); 乐果标样由国家农药质检中心提供, 含量 ≥ 99.0%; 敌敌畏、马拉硫磷均由天津农药股份有限公司提供, 上述 3 种农药均用丙酮配制浓度为 10 mg/mL 或 20 mg/mL 的储备液, 在冰箱中保存, 临用时用正己烷稀释成浓度为 1 mg/mL 标准应用液。萃取剂: 正己烷与乙酸乙酯 (体积比 2:1) 混合液。丙酮、乙酸乙酯、石油醚、正己烷、甲醇、无水乙醇等均为分析纯, 实验用水为 MilliQ 超纯水。

### 1.2 方法

1.2.1 胃内容物中农药提取 称取 3~5 g 胃内容物于 50 mL 烧杯中, 加入 5 mL 纯水, 1 mL 分散剂丙酮, 在漩涡混合器上混合 10 s, 将上层液体转入 10 mL 具塞比色管中, 再加入 0.2~0.4 mL 萃取剂, 小心振荡 2 min, 静置 2 min (或离心 5 min), 用微量进样器吸取上层萃取剂于气相色谱仪中进行定性分析。

1.2.2 色谱条件 进样口温度 210 °C; 检测器 (FID) 温度 230 °C; 柱温采用程序升温: 升温至 50 °C 保持 2 min, 以 10 °C/min 的速率升温至 180 °C, 保持 1 min, 再以 3 °C/min 的速率升温至 210 °C, 保持 2 min; 载气: 高纯氮气 (≥ 99.99%), 柱流速 1.50 mL/min, 尾吹气 3.0 mL/min, 进样模式: 分流进样, 分流比 1:25, 进样量为 1~5 μL。

1.2.3 定性分析 移取适量 3 种有机磷农药于 10 mL 容量瓶中, 用萃取剂稀释成浓度为 30.0 μg/mL 混合标准溶液。气相色谱仪开机稳定后, 分别将农药混标液和样品提取液进样分析, 在色谱图上, 根据农药标准的保留时间对样品进行定性。

## 2 结果

### 2.1 阳性对照实验

称取 5 g 胃内容物 2 份于 2 只 50 mL 烧杯中, 其中一份为空白, 另一份加入混合有机磷农药标准液为阳性对照, 然后按本实验方法进行提取并分析 (手动进样), 实验结果见图 1。

收稿日期: 2009-03-16 修回日期: 2009-07-27

作者简介: 滕军 (1964-) 女, 高级实验师, 主要从事理化卫生分析工作。

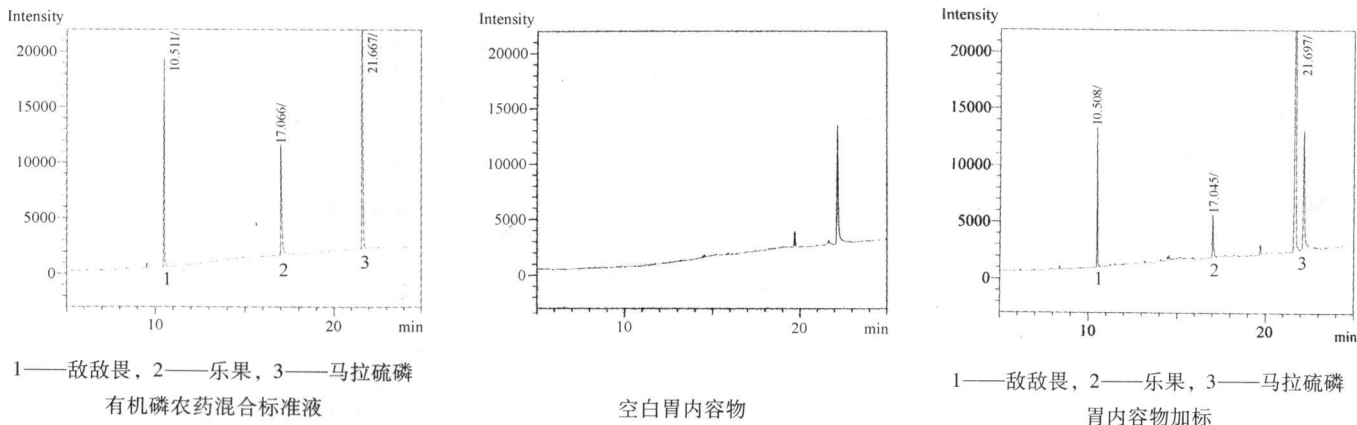


图1 有机磷农药混合标准液、胃内容物气相色谱图

2.2 色谱条件的选择

胃内容物中组分复杂, 为了实现各组分完全分离, 本实验柱温采取较低的初始温度进行程序升温; 有机磷农药属于极性或弱极性物质, 考察了 OV-1701与 DB-1两种弹性石英毛细管柱的选择实验, 通过对色谱条件和色谱柱的优化选择, 最终选择 DB-1毛细管柱; 有机磷农药大多不耐热, 随着温度升高而迅速分解, 因此本实验选择较低的进样口温度。

2.3 检出限

称取 5 g 胃内容物于 50 ml 烧杯中, 分别加入敌敌畏 4 μg, 乐果 12.5 μg, 马拉硫磷 7.5 μg, 然后按 1.2.1 实验方法进行提取, 同时做胃内容物空白, 将提取剂进行定性分析, 均检测到了 3 种有机磷农药高于基线噪音 2 倍的信号, 所以 3 种农药的检出限为: 敌敌畏 0.8 μg/g, 乐果 2.5 μg/g, 马拉硫磷 1.5 μg/g。

2.4 萃取剂的选择

由于胃内容物组成复杂, 为了便于提取, 实验要求萃取剂相对密度小, 能浮在被萃取溶液上层, 且对农药的溶解能力大。本实验对乙酸乙酯、石油醚、正己烷、乙酸乙酯与正己烷混合液等 4 种萃取剂进行了比较, 石油醚与正己烷对乐果的溶解力较差, 乙酸乙酯溶解力大, 但相对密度 (0.896) 较大, 不易提取, 最后选择乙酸乙酯与正己烷混合液为萃取剂。

2.5 分散剂及其体积的选择

实验要求分散剂既能与被萃取溶液互溶, 又能在萃取剂中有良好的溶解性, 使萃取剂能在溶液中分散成液滴, 增大其与待测物的接触面积, 提高萃取效率; 本实验考察了甲醇、乙醇、丙酮的萃取效果, 结果表明, 丙酮的萃取效果较好, 所以选择丙酮作为分散剂。实验中分别用体积为 0.5 ml, 1.0 ml, 1.5 ml 的丙酮考察萃取效果, 丙酮体积为 1.0 ml 时即能很好的提取样液中农药, 所以选用丙酮体积为 1.0 ml。分散剂体积与萃取效率关系见图 2。

2.6 萃取时间的选择

样液中加入分散剂和萃取剂后, 振摇时间分别考察了 1 min, 2 min, 3 min, 结果表明, 萃取效率随时间增加而提高, 2 min 后萃取效率改变不明显, 故本实验选择萃取时间为 2 min, 见图 3。

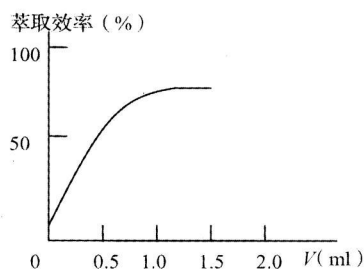


图2 分散剂体积与萃取效率关系曲线

2.7 应用实验结果

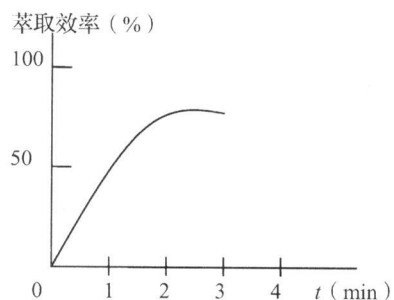


图3 萃取效率与萃取时间关系曲线

根据大鼠有机磷农药经口 LD<sub>50</sub><sup>[8]</sup> 确定大鼠用药剂量为 2/3 LD<sub>50</sub>。经口染毒敌敌畏的大鼠药性发作后 5 min 处死取胃内容物; 经口染毒乐果、马拉硫磷的大鼠 50 min 后处死取胃内容物; 将上述胃内容物用本实验方法进行检测, 在胃内容物中均检出了农药原药。

3 讨论

有机磷农药不是医疗用药, 在正常饮食中不应该含有, 所以涉及杀虫药中毒的检验, 通常只需要定性检出即可说明问题。有机磷农药中毒者绝大多数是经口进入体内, 农药进入机体后即被迅速分解代谢, 中毒时间较长者, 则不易检出农药原药, 如果怀疑是有机磷农药中毒, 应该进一步做代谢物检测。马拉硫磷和乐果在体内的氧化产物分别为马拉氧磷和氧化乐果; 敌敌畏很不稳定, 当它进入机体后, 在磷酸酯酶的作用下迅速水解, 产生多种水解产物, 有磷酸二甲酯、去甲基敌敌畏、二氯乙酸等。

上述几项指标可以基本反映肝脏细胞受损与否及损伤程度、肝脏的分泌和排泄功能以及肝细胞的合成代谢功能。《职业健康监护技术规范》中把反映肝脏损害(肝功能)的指标确定为血清 ALT 血清 ALT 的检测是很多职业危害因素上岗前的必检项目。笔者认为,只检测血清 ALT 既不能全面反映肝脏的受损程度,而且 ALT 增高 1 项结果也不能确定就是肝脏损害,同时也给体检机构带来了不必要的麻烦,目前体检机构均用较为先进的全自动生化分析仪来取代手工操作,做的项目少不仅不能节省成本,反而因资源闲置或不能充分利用使体检的成本相对增加,不利于体检机构的业务发展。

另外,一些临床上很少开展的项目如血清葡萄糖-6磷酸脱氢酶的检测和尿  $\beta_2$  微球蛋白的测定,因成本昂贵基层单位开展难度较大,列为必检项目不太切合实际。

1.4 体检周期太复杂,不利于对用人单位进行连续性的监护,增加了卫生监督工作难度

为做好职业卫生技术服务工作,更好地服务于广大用人单位,也为了配合卫生监督部门做好职业卫生监督,我们最近把 2008 年在我单位体检的接害人员与往年作了对比。结果发现,体检人员差别非常大。比如某热电厂,2006、2007、2008 年接触煤尘作业的体检人数都是 100 人左右,2006 年与 2008 年煤尘作业体检名单对比,发现名字相同的还不到 30 人。新规范在确定体检周期时还充分考虑作业环境浓度是否达标这一因素,对符合国家标准的周期适当延长,有的规定 1 年,有的 2 年,有的 3 年,我们也认为从理论上是可行的,但是具体工作中规定太细,在目前《职业病防治法》宣传不到位、企业法律意识差、职工自我保护知识缺乏、监督机构监管不到位的情况下,只会人为地给企业提供逃避责任的可能,给监督机构执法造成了不便。

## 2 建议

(上接第 386 页)除出现农药色谱峰外,也会出现杂峰,必须同时做相应的空白样品对照和当地农药参比对照,以排除样品组分杂质和农药工业生产中杂质的干扰。检测有机磷农药的检测器较多,可选用火焰光度检测器(FHD)、氮磷检测器(NPD)、电子捕获检测器(ECD)和火焰离子化检测器(FID)等。

### 参考文献:

- [1] 张宁. 果蔬中有机磷农药残留快速检测方法研究 [J]. 安徽农业科学, 2005 33 (8): 1471-1472.
- [2] 宋茹, 纪淑娟, 李晶. 蔬菜中有机磷及氨基甲酸类农药残留酶片快速检测法的评价 [J]. 食品研究与开发, 2004 25 (2): 119-221.
- [3] 梅平, 惠小敏, 王雄. 农药残留检测中酶联免疫吸附技术的研究进展 [J]. 长江大学学报(自然版)理工卷, 2007 4 (1): 37-42.
- [4] 孙武勇, 林琳, 屈凌波, 等. 钙黄绿素- $\text{Pr}^{3+}$  荧光光度法测定甲基对硫磷 [J]. 光谱实验室, 2003 20 (6): 913-915.

2.1 为体现国家标准的严肃与公正性,我们还是希望《职业健康监护技术规范》作为唯一的国家标准来执行。因此我们建议在修订时,可参照职业病诊断标准模式。每一种(类)职业病危害因素可制定总则,确定这一类化学物质的目标疾病与检查内容。总则后可增加资料性附录或规范性附录,对能够参照此标准进行监护的化学物质可分类列举,这样执行起来会更方便,操作性更强。

2.2 调整某些危害因素的目标疾病内容,使其尽可能涵盖所造成的危害。如噪声作业在岗期间职业禁忌证中增加 II 期(级)和 III 期(级)高血压、器质性心脏病,把血细胞异常列入汽油作业的职业禁忌证中,把除外职业因素所致的各种慢性肝炎、晶体混浊白内障也列入三硝基甲苯在岗期间的职业禁忌证中。

2.3 确定《职业健康监护技术规范》中的职业健康检查内容时,应考虑目前大部分疾控和职防机构已经投入较大资金购买了比较现代化的体检设备,可开展的项目已大幅度增加,体检能力也明显增强等实际情况,尽可能地将相应项目列入体检内容而不必分必检和选检。

2.4 统筹考虑卫生监督部门的操作性问题,减少职业卫生监督执法在技术上的难度,比如将体检周期定为 1 年。

### 参考文献:

- [1] 中华人民共和国卫生部. GBZ59-2002 职业性中毒性肝病诊断标准附录 B [S]. 北京: 法律出版社, 2002.
- [2] 中华人民共和国卫生部. GBZ79-2002 职业性急性中毒性肾病诊断标准附录 A [S]. 北京: 法律出版社, 2002.
- [3] 中华人民共和国卫生部. GBZ76-2002 职业性急性化学物中毒性神经系统疾病诊断标准附录 A [S]. 北京: 法律出版社, 2002.
- [4] 李德鸿. 职业健康监护指南 [M]. 上海: 东华大学出版社, 2007: 27.
- [5] 郭辉, 何成勇, 陈靖, 等. 分光光度计在蔬菜农药残留快速检测上的应用 [J]. 新疆农业科技, 2005 1: 40.
- [6] Mulchandani P, Chen W, Mulchandani A. Injection amperometric enzyme biosensor for direct determination of organophosphatereverase [J]. Environmental Science and Technology 2001, 35: 2562-2565.
- [7] 徐洁, 叶芝样, 张丽, 等. 基于分子印迹技术的敌百虫农药传感器的研制 [J]. 化学研究与应用, 2007 19 (9): 1021-1025.
- [8] 贺浪冲. 法医毒物分析 [M]. 3 版. 北京: 人民卫生出版社, 2004: 159-171.
- [9] 陈昆峰, 曾昭书. 法医检验技术 [M]. 北京: 海洋出版社, 2007: 288-297.
- [10] Hernandez F, Pitarich E, Beilun J. Headspace solid phase microextraction in combination with gas chromatography and tandem mass spectrometry for the determination of organochlorine and organophosphorus pesticides in whole human body [J]. J Chromatogr B Biomed Appl 2002, 769: 65-77.