

周 凯,常 真,罗志军,等. 两相中空纤维膜支载离子液体液相微萃取法测定环境水体中的孔雀石绿[J]. 江苏农业科学,2013,41(9):282-285.

# 两相中空纤维膜支载离子液体液相微萃取法 测定环境水体中的孔雀石绿

周 凯,常 真,罗志军,仰榴青,吴向阳,张 楦

(江苏大学环境学院,江苏镇江 212013)

**摘要:**以 1-辛基-3-甲基咪唑六氟磷酸盐离子液体( $[C_8MIM][PF_6]$ )为萃取剂,利用两相中空纤维膜支载离子液体液相微萃取法,结合高效液相色谱(HPLC)进行环境水样中孔雀石绿(MG)的分析测定。对影响萃取效果的一些主要因素(如 pH 值、盐度、萃取时间、转速、供体相体积等)进行优化,在最优条件下,该方法具有较宽的线性范围(0.2~100  $\mu\text{g/L}$ )、较低的检出限(0.1  $\mu\text{g/L}$ )和良好的重复性(相对标准偏差  $RSD=8.4\%$ ,  $n=5$ )。以该方法分析实际环境水样,回收率在 82%~103% 之间,表明该方法可用于准确测定环境水体中低浓度的孔雀石绿。

**关键词:**孔雀石绿;中空纤维;离子液体;环境水样;检测方法

**中图分类号:** X132 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2013)09-0282-03

孔雀石绿(MG)为三苯甲烷类染料,曾在水产养殖中被广泛用作杀菌剂<sup>[1-2]</sup>。研究表明,孔雀石绿具有潜在的致癌、致突变和基因毒性<sup>[3-5]</sup>,已被许多国家禁止使用。然而,由于这种物质抗菌效果好且价格低廉,仍然被非法用于渔业养殖,已在水环境中被多次检出<sup>[6-8]</sup>,因此,有必要建立一种前处理简单、灵敏度高的方法用于环境水体中痕量孔雀石绿的分析测定。

环境水体中孔雀石绿含量极低(数量级  $\text{ng/L} \sim \mu\text{g/L}$ ),在检测前需进行净化富集。目前,固相萃取<sup>[9]</sup>(SPE)是这类物质分析的主要样品前处理方法,但这种技术有一些不足<sup>[10]</sup>:成本高,耗时长,操作复杂。与之相比,中空纤维液相微萃取法(HF-LPME)具有萃取剂用量少、前处理简单的特点,同时,离子液体由于其毒性低、不易挥发、对孔雀石绿萃取效率高等特点,被选为最佳萃取剂<sup>[11-16]</sup>。

本研究中,采用两相 HF-LPME 结合 HPLC 用于分析水体中的痕量孔雀石绿。在萃取过程中,对影响萃取效果的参数进行了详细的考察,在最优条件下,对实际水样中的孔雀石绿进行了检测研究。

## 1 材料与方法

### 1.1 试剂

纯度 97.0% 的孔雀石绿标准品和色谱纯的乙腈(阿拉丁试剂有限公司);纯度为 99.0% 的 1-辛基-3-甲基咪唑六氟磷酸盐离子液体( $[C_8MIM][PF_6]$ )(上海镁鋆钼实业有限公司);其

余试剂均购自南京化学试剂厂,如无特殊说明均为分析纯。

### 1.2 材料

pp50/280 聚丙烯中空纤维(内径:280  $\mu\text{m}$ ,壁厚:50  $\mu\text{m}$ ,孔径:0.1  $\mu\text{m}$ ,孔率:60%)购于 Membrana GmbH(Wuppertal, Germany)。

### 1.3 样品采集

3 种环境水样分别采自江苏大学实验室的自来水、校园湖水和周家河水,所有水样均用棕色玻璃瓶采集,4  $^{\circ}\text{C}$  下保存,试验前所有水样用 0.22  $\mu\text{m}$  的微孔滤膜过滤。

### 1.4 萃取程序

将中空纤维剪成约 10 cm 的小段,置于丙酮中超声清洗,晾干备用。用镊子将纤维两端热封,浸入 $[C_8MIM][PF_6]$ 中超声 4 h,使纤维内腔中充满离子液体。萃取结束后,将纤维取出,剪去两端后置于含有 500  $\mu\text{L}$  的乙腈中静态解吸,解吸完全后于 HPLC 中测定。

### 1.5 HPLC 分析条件

LC-2010AHT 型高效液相色谱仪/紫外检测器(岛津公司,日本)。色谱柱: Eclipse XDB- $C_{18}$  column(5  $\mu\text{m}$ , 150 mm  $\times$  4.6 mm);流动相组成: A(乙腈) + B( $\text{CH}_3\text{COOH} - \text{CH}_3\text{COONa}$  缓冲液, pH 值 4.3, 20 mmol/L),其中  $V(A):V(B)=60:40$ ;流速:1.0 mL/min;柱温:30  $^{\circ}\text{C}$ ;检测波长:600 nm;进样量:20  $\mu\text{L}$ 。所有试验结果均为 3 次或以上平行试验的平均值。分析物的富集倍数(EF)通过以下方程式计算所得:

$$EF = C_{\text{后}}/C_{\text{前}}$$

式中: $C_{\text{后}}$ 和 $C_{\text{前}}$ 分别表示分析物萃取后与萃取前的浓度。

## 2 结果与讨论

萃取剂是影响萃取效果的重要因素。基于以往的研究<sup>[17]</sup>,室温离子液体 $[C_8MIM][PF_6]$ 因具有的重要特性(环境友好、蒸气压低、与水 and 有机溶剂混溶等)而被选作萃取剂。参照文献[18-20],选取聚丙烯中空纤维为萃取体系。此外,本研究对影响萃取效果的其他参数(样品 pH 值、盐度、萃取时间、振荡转速和供体相体积)依次进行优化。

收稿日期:2013-01-16

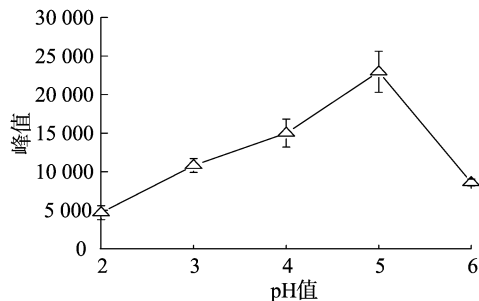
基金项目:国家自然科学基金(编号:21107036);教育部高等学校博士点基金(编号:20113227120005);江苏省自然科学基金(编号:BK2012716)。

作者简介:周 凯(1986—),女,湖南邵阳人,硕士,研究方向为环境分析化学。E-mail:zhoukai2006.happy@163.com。

通信作者:吴 向,博士,教授,研究方向为环境化学、水污染控制、天然产物化学和农业资源高效利用等。Tel:(0511) 88791200; E-mail:wuxy@ujs.edu.cn。

## 2.1 最适 pH 值的确定

对于极性化合物,样品溶液的 pH 值可以改变目标物的存在状态,从而影响萃取效率。孔雀石绿属于弱酸性化合物( $pK_a = 6.9$ ),故在 pH 值较低时可使其保持分子状态,减弱电离态,从而在水溶液中的溶解度降低,有利于此类化合物被分配到  $[C_8MIM][PF_6]$  中。试验结果(图 1)显示:溶液 pH 值为 5 时,峰面积最大。

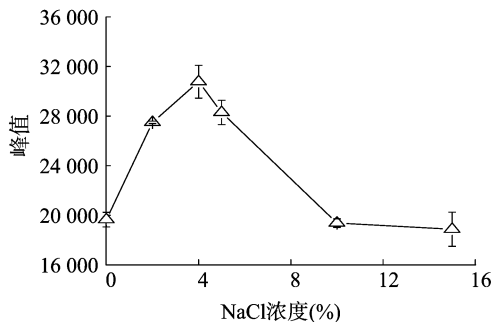


萃取条件: 供体相体积, 80 mL; 加标量, 10  $\mu\text{g/L}$ ; 萃取时间, 4 h; 振荡转速, 180 r/min; 温度, 25  $^{\circ}\text{C}$

图1 pH值对萃取效率的影响

## 2.2 最佳盐浓度的选择

在萃取过程中,盐的加入可以产生 2 个作用:(1)增加分析物在有机相中的分配系数,使样品中的分析物尽可能多地从样品溶液中释放出来,从而提高萃取效率(盐析效应)<sup>[21]</sup>; (2)增加离子强度,静电作用增强<sup>[22]</sup>。本研究(图 2),当盐浓度在 0~4% 时,峰面积逐渐增加;当超过 4% 时,峰面积随盐浓度的增大而减小。盐浓度较低条件下,盐析效应占主导地位,萃取效率提高,而当盐浓度过大时,大量增加的离子强度所产生的静电作用将会使  $[C_8MIM]^+$  和  $Cl^-$  结合,导致部分离子液体溶解在水相中,萃取效率降低。



萃取条件: 供体相体积, 80 mL; 加标量, 10  $\mu\text{g/L}$ ; pH 值, 5; 萃取时间, 4 h; 振荡转速, 180 r/min; 温度, 25  $^{\circ}\text{C}$

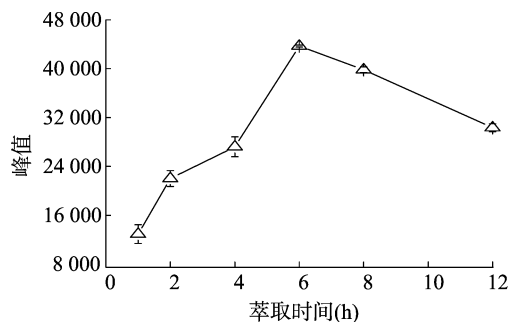
图2 盐度对萃取效率的影响

## 2.3 萃取时间的确定

中空纤维支撑液膜萃取过程可以分为动力学阶段和平衡阶段。一般情况下,在达到萃取平衡之前的动力学阶段,延长萃取时间将获得较高的萃取效率<sup>[23]</sup>。为了使萃取进行得更加充分,试验考察了萃取时间对萃取效率的影响,结果(图 3)表明当萃取时间为 6 h 时,峰面积值最大,此时萃取达到平衡,而超过 6 h 后峰面积减小,可能是由于萃取时间过长导致离子液体部分溶解在水相中<sup>[24]</sup>。

## 2.4 振荡转速的确定

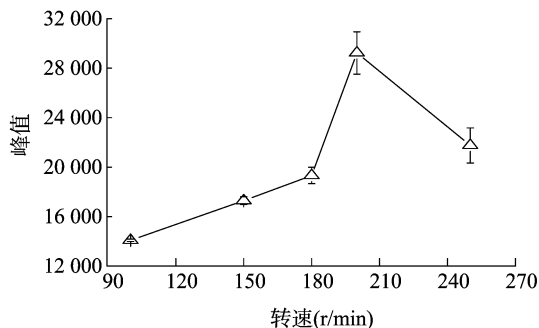
振荡或搅拌可以加快传质效率和缩短达到动态平衡所需



萃取条件: 供体相体积, 80 mL; 加标量, 10  $\mu\text{g/L}$ ; pH 值, 5; 盐浓度, 4%; 振荡转速, 180 r/min; 温度, 25  $^{\circ}\text{C}$

图3 萃取时间对萃取效率的影响

的萃取时间<sup>[24-26]</sup>。图 4 的结果显示,当振荡转速增加时,峰面积增大,当转速为 250 r/min 时,萃取效果急剧下降,可能是强烈的振荡会导致离子液体从中空纤维膜孔脱落或者在水相中乳化。因此,在随后的试验中采用的振荡转速为 200 r/min。

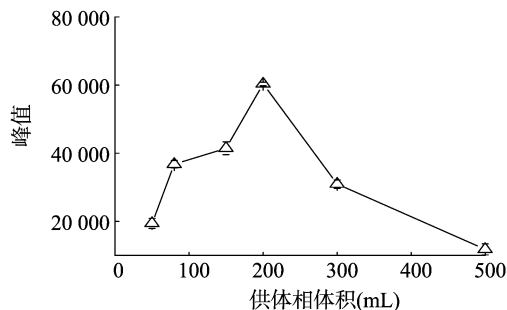


萃取条件: 供体相体积, 80 mL; 加标量, 10  $\mu\text{g/L}$ ; pH 值, 5; 盐浓度, 4%; 萃取时间, 6 h

图4 振荡转速对萃取效率的影响

## 2.5 供体相体积的确定

供体相的体积会影响分析物的萃取效果。尽管试验中采用的液膜是疏水性较强的有机化合物,但是当样品溶液体积过大时,相应的萃取时间较长,从而影响液膜的稳定性,造成液膜脱落。本研究考察了 50~500 mL 供体相体积对萃取效率的影响。试验结果(图 5)表明,孔雀石绿的萃取效率随着供体相体积的增大而提高,在 200 mL 时达到最大值,超过 200 mL 后,萃取效率下降,而且供体相体积大时所需的平衡时间会随之加长,因此,选择供体相体积为 200 mL。



萃取条件: 加标量, 10  $\mu\text{g/L}$ ; pH 值, 5; 盐浓度, 4%; 萃取时间, 6 h; 转速, 200 r/min; 温度, 25  $^{\circ}\text{C}$

图5 供体相体积对萃取效率的影响

## 2.6 方法性能评价和实际应用

在最优的条件下,从线性范围、检测限与精密度等方面对

方法的性能进行了评估。检测限以 3 倍信噪比 ( $S/N=3$ ) 计算获得,相关数据均为 5 次以上结果的平均值。结果如表 1 所示,该方法获得了良好的线性范围(0.2 ~ 100  $\mu\text{g/L}$ );良好的重现性( $RSD=8.4\%$ ,  $n=5$ ); 较低的检测限(0.1  $\mu\text{g/L}$ ); 孔雀石绿的富集倍数为 1193 倍。

表 1 本检测方法评估

分析物	线性范围 ( $\mu\text{g/L}$ )	线性方程	决定系数 ( $r^2$ )	富集 倍数	检测限 ( $\mu\text{g/L}$ )
孔雀石绿	0.2 ~ 100	$y=4\,721.3x+1\,133.8$	0.996 7	1 193	0.1

将该方法应用于检测 3 种环境水体中的孔雀石绿,表 2 的结果显示这 3 种水样中均无孔雀石绿检出。对这 3 种水样进行加标回收试验,获得回收率为 82% ~ 103.0%,可见该方法的实用性较好。

表 2 孔雀石绿的实际水样分析

水样	添加值 ( $\mu\text{g/L}$ )	测定值 ( $\mu\text{g/L}$ )	回收率 (%)
实验室自来水	0	ND	
	5	4.7	$94\pm5.1$
	10	9.1	$91\pm7.6$
江苏大学湖水	0	ND	
	5	4.8	$96\pm5.8$
	10	10.3	$103\pm5.2$
周家河水	0	ND	
	5	4.1	$82\pm4.7$
	10	10.2	$102\pm6.9$

注:ND 为未检出。

3 结论

本研究建立了两相中空纤维膜支载离子液体液相微萃取法测定环境水样中孔雀石绿的新方法。与其他分析方法相比,本方法具有前处理程序简单、富集倍数高、不易受基质干扰、重复性高等优点,可广泛用于环境水体中痕量孔雀石绿的检测。

参考文献:

[1] Srivastava S, Sinha R, Roy D. Toxicological effects of malachite green [J]. Aquatic Toxicology, 2004, 66(3): 319-329.

[2] Mitrowska K, Posyniak A, Zmudzki J. The effects of cooking on residues of malachite green and leucomalachite green in carp muscles [J]. Analytica Chimica Acta, 2007, 586(1/2): 420-425.

[3] Mitrowska K, Posyniak A, Zmudzki J. Determination of malachite green and leucomalachite green in carp muscle by liquid chromatography with visible and fluorescence detection[J]. Journal of Chromatography a, 2005, 1089(1/2): 187-192.

[4] Safarik I, Safariková M. Detection of low concentrations of malachite green and crystal violet in water[J]. Water Research, 2002, 36(1): 196-200.

[5] Bergwerff A A, Scherpenisse P. Determination of residues of malachite green in aquatic animals[J]. Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences, 2003, 788(2): 351-359.

[6] Guo Z, Gai P, Hao T, et al. Determination of malachite green residues in fish using a highly sensitive electrochemiluminescence method com-

bined with molecularly imprinted solid phase extraction[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2011, 59(10): 5257-5262.

[7] Pourreza N, Elhami S. Spectrophotometric determination of malachite green in fish farming water samples after cloud point extraction using nonionic surfactant triton X-100 [J]. Analytica Chimica Acta, 2007, 596(1): 62-65.

[8] An L, Deng J, Zhou L, et al. Simultaneous spectrophotometric determination of trace amount of malachite green and crystal violet in water after cloud point extraction using partial least squares regression[J]. Journal of Hazardous Materials, 2010, 175(1/2/3): 883-888.

[9] Cheng D, Li B. Simple and sensitive fluorometric sensing of malachite green with native double-stranded calf thymus DNA as sensing material[J]. Talanta, 2009, 78(3): 949-953.

[10] Zhao L, Lee H K. Liquid-phase microextraction combined with hollow fiber as a sample preparation technique prior to gas chromatography/mass spectrometry [J]. Analytical Chemistry, 2002, 74(11): 2486-2492.

[11] Aguilera-Herrador E, Lucena R, Cardenas S, et al. The roles of ionic liquids in sorptive microextraction techniques [J]. TRAC Trends in Analytical Chemistry, 2009, 29(7): 602-616.

[12] Dadfarnia S, Haji Shabani A M. Recent development in liquid phase microextraction for determination of trace level concentration of metals—a review [J]. Analytica Chimica Acta, 2010, 658(2): 107-119.

[13] Ramos Payán M, Bello López M A, Fernández-Torres R, et al. Application of hollow fiber-based liquid-phase microextraction (HF-LPME) for the determination of acidic pharmaceuticals in wastewaters[J]. Talanta, 2010, 82(2): 854-858.

[14] Ramos Payán M, Bello López M A, Fernández-Torres R, et al. Hollow fiber-based liquid phase microextraction (HF-LPME) as a new approach for the HPLC determination of fluoroquinolones in biological and environmental matrices[J]. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2011, 55(2): 332-341.

[15] Liu J F, Peng J F, Chi Y G, et al. Determination of formaldehyde in shiitake mushroom by ionic liquid-based liquid-phase microextraction coupled with liquid chromatography[J]. Talanta, 2005, 65(3): 705-709.

[16] Liu J F, Chi Y G, Jiang G B. Screening the extractability of some typical environmental pollutants by ionic liquids in liquid-phase microextraction[J]. Journal of Separation Science, 2005, 28(1): 87-91.

[17] Zhang Z, Zhou K, Bu Y Q, et al. Determination of malachite green and crystal violet in environmental water using temperature-controlled ionic liquid dispersive liquid-liquid microextraction coupled with high performance liquid chromatography[J]. Analytical Methods: Advancing Methods and Applications, 2012, 4: 429-433.

[18] Jing J, Shao X L, Chang Z, et al. Hollow fiber supported ionic liquid-liquid microextraction for determination of triclosan in environmental water samples [J]. Chinese J Anal Chem, 2012, 40(8): 1257-1261.

[19] Tao Y, Liu J F, Hu X L, et al. Hollow fiber supported ionic liquid membrane microextraction for determination of sulfonamides in environmental water samples by high-performance liquid chromatography[J]. Journal of Chromatography A, 2009, 1216(35): 6259-6266.

尚兵兵<sup>1</sup>, 俞益武<sup>2</sup>, 殷 倩. 落羽杉挥发性有机化合物日动态变化分析[J]. 江苏农业科学, 2013, 41(9): 285–287.

# 落羽杉挥发性有机化合物日动态变化分析

尚兵兵<sup>1</sup>, 俞益武<sup>2</sup>, 殷 倩<sup>1</sup>, 张倩倩<sup>1</sup>, 薛 丹<sup>1</sup>

(1. 浙江农林大学林业与生物技术学院, 浙江临安 311300; 2. 浙江农林大学风景园林与建筑学院, 浙江临安 311300)

**摘要:**为探究落羽杉枝叶挥发物日动态变化, 采用动态顶空气体循环采集法和热脱附气质联用技术, 对 3 个时间点(07:00、13:00、18:00)落羽杉枝叶挥发物进行采集和成分分析。结果表明, 全天从枝叶中共鉴定出 38 种成分, 主要为萜烯类化合物。其中, 13:00 落羽杉枝叶挥发物释放量和种类最多(28 种, 峰面积  $249.69 \times 10^6$ ), 主要为  $\beta$ -蒎烯(相对含量 42.97%)、柠檬烯(30.53%)、水芹烯(6.54%)、莰烯(3.44%)、石竹烯(2.46%)、萜品油烯(2.07%)。落羽杉枝叶挥发物释放量和种类在不同时间点差异明显。

**关键词:**落羽杉; 挥发物; 日变化; TDS-GC/MS 技术

**中图分类号:** S718.3; Q946 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2013)09-0285-03

落羽杉 [*Taxodium distichum* (Linn.) Rich.] 别称落羽松, 杉科落羽杉属落叶或半落叶乔木, 为古老孑遗植物, 原产北美东南部低湿地区, 于 1930 年引入我国。浙江省杭嘉湖平原、宁绍平原、沿海城镇及海岛普遍引种植, 长势良好, 抗风力亦强<sup>[1]</sup>。落羽杉挥发油对细菌、真菌、病毒等微生物有明显抑制作用<sup>[2-4]</sup>。日本只木良研究证明, 单萜类与倍半萜类化合物均具有很强的生理功效, 并将单萜烯和倍半萜烯相对含量之和作为衡量植物保健作用的指标<sup>[5]</sup>。本试验采用动态顶空气体循环采集法和热脱附-气相色谱/质谱联用法(thermo desorption system/gas chromatography/mass spectrum, TDS-GC/MS), 对落羽杉枝叶挥发物进行采集和分析, 研究其组分含量及日动态变化。

收稿日期: 2013-01-13

基金项目: 教育部社会科学基金(编号: 08JA880061)。

作者简介: 尚兵兵(1987—), 女, 河南许昌人, 硕士研究生, 从事生态旅游和园林植物研究。E-mail: xia.miao.love@163.com。

通信作者: 俞益武, 男, 教授, 主要从事城乡规划学研究。E-mail: fh111@126.com。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

试验于 2012 年 7 月初在临安市浙江农林大学东湖校区校园内进行, 供试植株落羽杉, 平均树龄 10 年。

### 1.2 方法

**1.2.1 挥发物采集方法** 选择晴好无风的天气, 选用 QC-1 型大气采样仪, 采用动态顶空气体循环采集法对落羽杉植物长势良好的枝叶进行挥发物采样, 采样部位为树冠向阳背面中部健康无损伤的枝叶, 采样时间分别为 07:00、13:00、18:00, 单次采气时间为 30 min, 3 次平行重复试验。

**1.2.2 挥发物成分分析方法** 植物香气成分分析采用 TDS-GC/MS 分析。仪器及参数设置条件参考高岩<sup>[6]</sup>的方法。

TDS(德国 Gerstel 公司生产的 TD3 型)工作条件: 系统载气压力为 20 kPa; 进样口温度为 250 ℃; 热脱附温度为 250 ℃(10 min); 冷阱温度为 -100 ℃(保持 3 min)。

GC(美国 Agilent 公司生产的 7890A 型)工作条件: 色谱柱为 30 m × 250 μm × 0.25 μm 的 HP-5MS 柱; 程序升温: 初始温度 40 ℃, 保持 4 min, 以后以 6 ℃/min 的速率升至 250 ℃,

[20] Tao Y, Liu J F, Wang T, et al. Simultaneous conduction of two- and three-phase hollow-fiber-based liquid-phase microextraction for the determination of aromatic amines in environmental water samples[J]. Journal of Chromatography A, 2009, 1216(5): 756–762.

[21] Yang L, Lan C, Liu H, et al. Full automation of solid-phase microextraction/on-fiber derivatization for simultaneous determination of endocrine-disrupting chemicals and steroid hormones by gas chromatography-mass spectrometry[J]. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2006, 386(2): 391–397.

[22] Peng J F, Liu J F, Hu X L, et al. Direct determination of chlorophenols in environmental water samples by hollow fiber supported ionic liquid membrane extraction coupled with high-performance liquid chromatography[J]. Journal of Chromatography A, 2007, 1139(2): 165–170.

[23] Mirzaei M, Dinpanah H. Three phases hollow fiber LPME combined with HPLC-UV for extraction, preconcentration and determination

of valerenic acid in *Valeriana officinalis*[J]. Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences, 2011, 879(21): 1870–1874.

[24] Desoubries C, Chapuis-Hugon F, Bossée A, et al. Three-phase hollow fiber liquid-phase microextraction of organophosphorous nerve agent degradation products from complex samples[J]. Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences, 2012, 900: 48–58.

[25] Zhu L, Ee K H, Zhao L, et al. Analysis of phenoxy herbicides in bovine milk by means of liquid-liquid-liquid microextraction with a hollow-fiber membrane[J]. Journal of Chromatography A, 2002, 963(1/2): 335–343.

[26] Ma M H, Cantwell F F. Solvent microextraction with simultaneous back-extraction for sample cleanup and preconcentration: preconcentration into a single microdrop[J]. Analytical Chemistry, 1999, 71(2): 388–393.