

分散固相萃取-气相色谱法测定水果中9种农药残留

孙大利, 胡琼波, 杨峰, 颜素娟, 刘承兰

(天然农药与化学生物学教育部重点实验室, 华南农业大学 昆虫毒理研究室, 广东 广州 510642)

摘要:建立了同时检测水果中9种农药(1-六六六、3-六六六、甲基毒死蜱、毒死蜱、苯氟磺胺、灭菌丹、*p,p'*-DDD、甲氰菊酯、三氟氯氰菊酯)残留的分散固相萃取-气相色谱联用方法。水果样品中残留农药采用乙腈提取,使用N-丙基乙二胺键合固相吸附材料(PSA)和C₁₈吸附剂分散固相萃取净化,采用DB-1701毛细管柱分离,电子捕获检测器(ECD)检测,外标法定量。在设定的色谱条件下,9种农药在0.000 5~0.100 0 mg/L范围内线性良好,检出限0.000 2~0.002 0 mg/kg;添加质量浓度为0.01~0.10 mg/kg时,9种农药平均回收率为74.4%~115.9%,相对标准偏差为2.3%~13.7%。该方法操作简单快速、准确度高,能够满足水果中多种农药残留限量标准的检测要求。

关键词:分散固相萃取; 气相色谱法; 农药残留; 水果

中图分类号:S859.7

文献标识码:A

文章编号:1001-411X(2011)02-0044-04

Determination of Nine Pesticide Residues in Fruits by Dispersive-SPE-Gas Chromatography

SUN Da-li, HU Qiong-bo, YANG Feng, YAN Su-juan, LIU Cheng-lan

(Key Lab of Natural Pesticide and Chemical Biology, Ministry of Education, Laboratory of Insect Toxicology, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

Abstract: A rapid, simple and sensitive method was developed for the simultaneous determining of nine pesticide residues (1-BCH, 3-BCH, chlorpyrifos, chlorpyrifos-methyl, dichlofluanid, folpet, *p,p'*-DDD, fenpropathrin, cyhalothrin) in fruits by dispersive solid phase extraction-gas chromatography. The target pesticides in fruits were extracted by acetonitrile and cleaned up by dispersive solid phase extraction by using primary secondary amine (PSA) and C₁₈ dispersive sorbent. The analytes were detected by gas chromatography with electron capture detector (ECD), and quantified by external standard. With the optimal chromatogram conditions, the good linearities were obtained ranging from 0.000 5 mg/L to 0.100 0 mg/L for nine pesticides. The detection limits of nine pesticides were from 0.000 2 mg/kg to 0.002 0 mg/kg. The average recoveries ranged from 74.4% to 115.9% at fortified levels from 0.01 mg/kg to 0.10 mg/kg. The relative standard deviations (RSD) were less than 13.7%. The method of dispersive SPE-GC established in this study could be used for detecting the pesticide residues in fruits.

Key words: dispersive-SPE; SPE-GC; pesticide residue; fruit

农药残留造成的食品安全问题越来越受到国内外社会的广泛关注,各国都加强了对食品、农产品中农药残留的检测。如日本“肯定列表制度”规定水果中六六六的最大残留限量(MRL)为0.2 mg/kg,毒死

蜱为0.01~1.00 mg/kg,三氟氯氰菊酯为0.4~1.0 mg/kg。我国规定水果中六六六的MRL值为0.05 mg/kg,毒死蜱的MRL值为1~2 mg/kg^[1]。因此,建立水果中多种农药残留量的测定方法具有重要实际

收稿日期:2010-09-08

作者简介:孙大利(1985—),女,硕士;通信作者:刘承兰(1976—)男,副教授,博士,E-mail:liuchenglan@scau.edu.cn

基金项目:农业部农药化学与应用重点开放实验室课题(MOAPCA200905)

和理论意义。

2003年Anastassiades等^[2]提出的QuEchERS方法是一种采用分散型固相萃取净化技术的样品前处理方法,已被应用于蔬菜、水果中农药残留分析^[3~9]。1-六六六、3-六六六和 p,p' -DDD属于有机氯类杀虫剂,甲基毒死蜱和毒死蜱属于有机磷杀虫剂,苯氟磺胺(抑菌灵)和灭菌丹属于有机硫类杀菌剂,甲氰菊酯和三氟氯氰菊酯属于菊酯类杀虫剂,目前,关于QuEchERS技术用于测定上述几类农药在香蕉、荔枝、葡萄、苹果等水果中残留的研究还较少报道,本文在此技术的基础上进行了改进,建立了多种农药在4种水果中的气相色谱残留检测方法,采用乙腈提取,N-丙基乙二胺键合固相吸附材料(PSA)和 C_{18} 吸附剂混合分散固相萃取净化,方法简单、快速、基质干扰小,灵敏度和检出限均符合多残留分析的要求。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

安捷伦 GC 6890 气相色谱仪(美国 Agilent 公司),配电子捕获检测器(ECD)、自动进样器、化学工作站;漩涡混合器(上海精科实业有限公司生产)、高速冷冻离心机(Sartorius-Sigma公司)、小型离心机、氮吹仪(天津市恒奥科技发展有限公司生产)。

标准品:1-六六六、3-六六六、甲基毒死蜱、毒死蜱、 p,p' -DDD、甲氰菊酯、三氟氯氰菊酯标准液(100 mg/L,购于天津市东方绿色技术发展公司),苯氟磺胺(97%)、灭菌丹(98%)(购于Sigma公司);乙腈、甲醇为色谱纯(购于美国J T Baker公司),正己烷为分析纯,超纯水;PSA粉、 C_{18} (均为Dikma technologies);氯化钠,分析纯(用前150℃烘6h);无水硫酸镁,分析纯(用前在500℃马弗炉内烘5h,冷却取出装瓶备用)。

1.2 试验方法

1.2.1 气相色谱条件 DB-1701 毛细管柱(30 m × 0.32 mm i. d., 0.25 μm);色谱柱温度:100℃保持0.5 min,以20℃/min升到220℃,保持1 min,以5℃/min升到260℃,保持15 min;进样口温度:240℃;检测器温度:300℃;不分流进样;载气:氮气;进样量:1 μL。

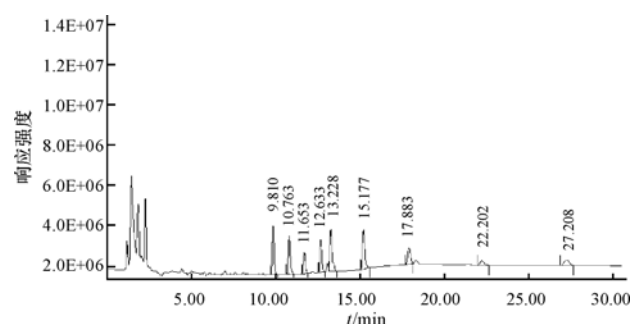
1.2.2 样品处理 称取5 g粉碎的水果样品放于50 mL离心管中,加入5 mL乙腈,漩涡振荡2 min,加入约5 g NaCl(视样品含水量而定),漩涡振荡1 min,

5 000 r/min 下离心5 min,取上清液1.5 mL于3 mL离心管中,然后加入150 mg $MgSO_4$ 、50 mg PSA、50 mg C_{18} ,漩涡振荡1 min,离心5 min(5 000 r/min),取上清液1 mL,氮气吹干,用正己烷定容至1 mL,过0.45 μm滤膜后,进气相色谱仪测定。

2 结果与分析

2.1 样品前处理条件的选择

匀浆后水果样品分别以乙腈和甲醇为溶剂进行提取,发现用乙腈提取时,离心后分层明显,而用甲醇提取时,分层效果不明显,上清液较混浊,即乙腈的盐析效果好于甲醇,有利于下一步的处理,故选择乙腈为提取溶剂。水果种类较多基质复杂,使用单一的PSA吸附剂很难去除多种杂质,本文试验了多种吸附剂组合的净化效果,经过多次试验确定使用PSA和 C_{18} 作为固相吸附剂,二者组合能够有效地去除水果乙腈提取液的干扰杂质,且具有良好的回收效果。混合标样、样品空白和样品添加色谱图见图1~3。



图中所示峰值分别为1-六六六(9.810 min)、3-六六六(10.763 min)、甲基毒死蜱(11.653 min)、毒死蜱(12.633 min)、苯氟磺胺(13.228 min)、灭菌丹(15.177 min)、 p,p' -DDD(17.883 min)、甲氰菊酯(22.202 min)、三氟氯氰菊酯(27.208 min)。

图1 9种农药的标准样品色谱图

Fig. 1 Chromatogram of nine pesticides mix standards

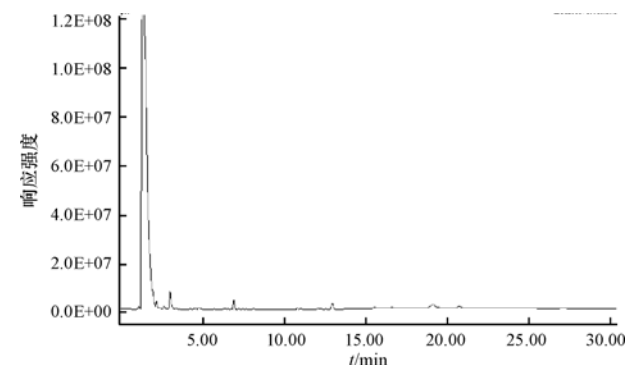
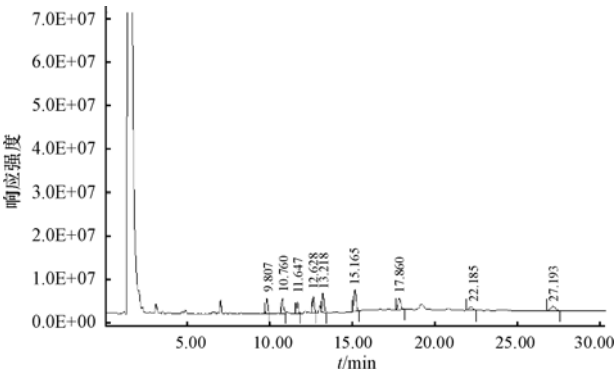


图2 荔枝空白样品色谱图

Fig. 2 Chromatogram of lichee blank sample



图中所示峰值分别为1-六六六(6.807 min)、3-六六六(10.760 min)、甲基毒死蜱(11.647 min)、毒死蜱(12.628 min)、苯氟磺胺(13.218 min)、灭菌丹(15.165 min)、*p,p'*-DDD(17.860 min)、甲氰菊酯(22.185 min)、三氟氯氰菊酯(27.193 min)。

图3 样品(荔枝)添加9种农药后的色谱图

Fig.3 Chromatogram of lichee sample spiked with 9 standard pesticides

2.2 方法的线性范围和检出限

配制系列混合标准工作液 0.000 5 ~ 0.200 0 mg/L,在上述分析条件下,以各目标农药的标准峰面积为纵坐标,以各目标农药的标准浓度为横坐标,制定标准曲线,结果见表 1. 从表 1 可知,相关系数在 0.997 8 ~ 0.999 8,表明方法具有良好的线性关系. 方法检出限为 0.000 2 ~ 0.002 0 mg/L(3 倍信噪比计).

表 2 9 种农药的方法平均回收率与相对标准偏差

Tab.2 Average Recoveries and RSDs of 9 pesticides at three levels in 4 kinds of fruits

农药	$\rho_{\text{添加}} / (\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1})$	香蕉		荔枝		葡萄		苹果	
		回收率/%	RSD/%	回收率/%	RSD/%	回收率/%	RSD/%	回收率/%	RSD/%
1-六六六	0.010	100.3	9.9	92.0	7.9	90.8	8.3	96.2	13.5
	0.025	91.7	5.0	107.8	6.2	78.8	7.6	87.7	9.6
	0.050	89.7	3.8	112.7	9.0	85.4	9.2	99.4	6.4
3-六六六	0.010	103.0	2.4	107.5	8.3	106.0	9.9	99.0	9.6
	0.025	83.5	5.2	97.0	5.8	84.6	8.7	81.8	2.8
	0.050	91.3	5.3	107.2	5.7	94.3	4.3	103.9	5.0
甲基毒死蜱	0.020	94.5	5.9	91.2	5.3	84.6	4.9	103.0	8.4
	0.050	81.8	3.2	94.3	4.1	88.0	11.9	79.8	11.2
	0.100	79.2	8.3	98.1	13.7	86.7	7.8	98.8	5.4
毒死蜱	0.020	92.7	3.7	90.6	5.3	94.0	2.3	119.0	7.2
	0.050	83.8	13.1	91.3	13.3	89.6	7.5	103.0	10.5
	0.100	79.4	6.3	94.7	4.3	93.7	9.7	98.3	2.5
苯氟磺胺	0.010	74.4	13.5	92.0	6.6	85.6	2.3	94.0	7.8
	0.025	75.4	11.2	90.9	7.9	95.4	9.4	93.9	7.3
	0.050	83.2	6.5	101.7	10.3	91.6	5.2	103.2	4.6
灭菌丹	0.020	105.4	8.9	101.8	7.9	105.8	5.6	111.1	5.3
	0.050	103.4	6.5	106.7	8.7	107.3	7.2	118.4	5.9
	0.100	103.8	6.0	107.2	13.1	94.5	10.2	109.4	6.5
<i>p,p'</i> -DDD	0.020	115.9	8.4	116.0	3.9	106.2	4.4	102.4	9.5
	0.050	106.4	6.4	107.6	10.8	104.6	8.2	100.8	6.4
	0.100	110.7	7.4	105.8	12.5	95.6	6.7	106.5	8.7
甲氰菊酯	0.020	110.0	11.5	106.3	6.9	88.2	10.4	102.1	7.4
	0.050	83.1	9.9	103.8	7.8	114.2	3.3	99.4	10.2
	0.100	93.0	5.1	110.2	10.6	100.2	4.9	108.2	6.8
三氟氯氰菊酯	0.020	113.2	6.2	108.2	7.8	112.7	8.1	100.9	3.7
	0.050	106.9	5.8	112.4	9.8	103.8	4.3	114.6	4.3
	0.100	113.6	8.7	105.2	11.0	94.5	6.5	103.3	10.2

2.3 方法回收率与精密度

对 4 种水果(香蕉、荔枝、葡萄、苹果)添加已知不等量的 9 种农药标准混合液,按上述提取、净化、测定步骤进行添加回收试验,各农药添加浓度水平如表 2 所示,每个水平重复 3 次,同时做空白对照,采用空白提取液配制的基质标样进行定量,结果如表 2 所示. 由表 2 可知,9 种农药的加标回收率在 74.4% ~ 115.9%,相对标准偏差 2.3% ~ 13.7%,本方法的回收率和重现性均能够满足农药残留分析的要求.

表 1 9 种农药的线性方程、相关系数和检出限

Tab.1 The linear equations, correlation coefficients and limit of detection of nine pesticides

农药	线性方程 ¹⁾	相关系数(<i>r</i>)	检出限/($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)
1-六六六	$y = 1.270\ 3 \times 10^8 x - 72\ 088$	0.999 6	0.000 2
3-六六六	$y = 1.089\ 3 \times 10^8 x + 187\ 321$	0.999 3	0.000 3
甲基毒死蜱	$y = 2.781\ 5 \times 10^8 x + 534\ 067$	0.999 1	0.001 0
毒死蜱	$y = 4.362 \times 10^7 x + 872\ 168$	0.999 4	0.000 6
苯氟磺胺	$y = 1.860\ 5 \times 10^8 x - 1\ 499\ 000$	0.999 8	0.000 5
灭菌丹	$y = 7.910\ 8 \times 10^8 x - 368\ 885$	0.999 6	0.001 0
<i>p,p'</i> -DDD	$y = 4.879\ 1 \times 10^7 x - 554\ 920$	0.999 1	0.001 0
甲氰菊酯	$y = 1.574\ 8 \times 10^7 x + 74\ 771$	0.997 8	0.002 0
三氟氯氰菊酯	$y = 2.867\ 3 \times 10^7 x - 46\ 457$	0.999 3	0.001 5

1) *x* 为浓度, *y* 为峰面积.

3 讨论与结论

在多种农药残留测定中,一般采用混合溶剂提取,自制填充柱或者固相萃取(SPE)小柱净化,操作过程较复杂,消耗的有机溶剂量大,成本高^[9]。已报道的研究在采用分散固相萃取技术进行农药残留检测时,多数采用单一的PSA吸附剂进行净化,这对于基质复杂的水果样品,净化效果并不理想^[10-13]。本文在此基础上进行了改进,采用PSA和C₁₈2种吸附剂混合净化,利用GC-ECD同时测定水果中多类农药残留,该方法能更好地吸附样品基质中的有机酸、色素、糖类等杂质,方法简单,操作方便、快速,同时也达到了很好的净化效果,实现了样品的快速制备。本研究经过一系列试验,优化了分散固相萃取前处理方法和仪器检测条件,方法回收率和方法灵敏度高,方法检出限为0.000 2~0.002 0 mg/kg,平均回收率在74.4%~115.9%之间,相对标准偏差小于13.7%。各项指标均符合农药残留分析检测的要求,适用于水果中多种痕量农药残留的分析。

参考文献:

- [1] 张莹,王绪卿,赵丹宇,等. GB2763—2005,食品中农药最大残留限量[S]. 北京:中国标准出版社,2005.
 - [2] ANASTASSIADES M, LEHOTAY S J, STAJNBAHER D, et al. Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and “dispersive solid-phase” for the determination of pesticide residues in produce[J]. Journal of AOAC International, 2003, 86(2): 412-431.
 - [3] 于彦彬,万述伟,谭培功,等. PSA分散固相萃取液相色谱荧光法测定蔬菜和水果中的灭定威[J]. 分析测试学报, 2005, 24(5): 75-77.
 - [4] 刘敏,端裕树,宋苑苑,等. 分散固相萃取-液相色谱-质谱检测蔬菜水果中氨基酸酯和有机磷农药[J]. 分析化学, 2006, 34(7): 941-945.
 - [5] 胡江涛,盛毅,方智,等. 分散固相萃取-高效液相色谱法快速检测猕猴桃中的氯吡脞[J]. 色谱, 2007, 25(3): 441-442.
 - [6] 牟仁祥,谢绍军,闵捷,等. PSA分散固相萃取和离子对液相色谱测定蔬菜中苯并咪唑类残留的研究[J]. 分析测试学报, 2008, 27(3): 280-283.
 - [7] 于彦彬,谭丕功,曲璐璐,等. PSA分散固相萃取液相色谱柱后衍生荧光法测定蔬菜和水果中的13种氨基酸酯[J]. 分析试验室, 2009, 28(11): 97-101.
 - [8] 董静,潘玉香,朱莉萍,等. 果蔬54种农药残留的QuEChERS/GC-MS快速分析[J]. 分析测试学报, 2008, 27(1): 66-69.
 - [9] 朱莉萍,朱涛,潘玉香,等. 气相色谱法同时测定蔬菜及水果中多种农药残留量[J]. 分析化学研究简报, 2008, 36(7): 999-1003.
 - [10] 董爱军,杨鑫,马莺,等. 食用菌中多菌灵残留的分散固相萃取/高效液相色谱法测定[J]. 分析测试学报, 2010, 29(6): 573-577.
 - [11] 张丹,王俊红,曾正红. 分散固相萃取-气相色谱法测定水果中多种有机磷农药残留[J]. 分析化学, 2009, 37: 94.
 - [12] 刘浩,周芳,李月娥. 分散固相萃取法对果蔬中农药残留前处理的优化[J]. 环境科学与管理, 2008, 33(5): 137-141.
 - [13] 王太全,曾正宏,张丹,等. 分散固相萃取-气相色谱-质谱法测定肉制品中残留的扑草净、禾草丹[J]. 肉类工业, 2009(4): 43-45.
- 【责任编辑 李晓卉】
-
- (上接第24页)
- [14] 吴启堂,王广寿,谭秀芳,等. 不同水稻、菜心品种和化肥形态对作物吸收累积镉的影响[J]. 华南农业大学学报, 1994, 15(4): 1-6.
 - [15] 国家环境保护局. GB15618—1995 土壤环境质量标准[S]. 北京:中国标准出版社, 1995.
 - [16] 鲍士旦. 土壤农化分析[M]. 3版. 北京:中国农业出版社, 2000: 380-382.
 - [17] 李锋民,熊治廷,郑振华. 7种高等植物对铅的耐性及其生物蓄积研究[J]. 农业环境保护, 1999, 18(6): 246-250.
 - [18] 中华人民共和国卫生部,国家标准化委员会. GB2762—2005 食品中污染物限量[S]. 北京:中国标准出版社, 2005.
 - [19] 黄泽春,宋波,陈同斌,等. 北京市菜地土壤和蔬菜的锌含量及其健康风险评估[J]. 地理研究, 2006, 25(3): 439-448.
 - [20] 郑袁明,宋波,陈同斌,等. 北京市菜地土壤和蔬菜中铜含量及其健康风险[J]. 农业环境科学学报, 2006, 25(5): 1093-1101.
 - [21] 刘传娟,刘凤枝,蔡彦明,等. 不同种类蔬菜苗期对镉的敏感性研究[J]. 农业环境科学学报, 2009, 28(9): 1789-1794.
 - [22] 宗良纲,孙静克,沈倩宇,等. Cd、Pb污染对几种叶类蔬菜生长的影响及其毒害症状[J]. 生态毒理学报, 2007, 2(1): 63-68.
 - [23] 吴晓,熊治廷,马晓敏. 12种蔬菜作物对铅、铜、镉抗性的研究[J]. 武汉大学学报:理学版, 2005, 51(S2): 291-293.
 - [24] 段云青,王艳,雷焕贵. 小白菜镉积累的基因型差异[J]. 河南农业科学, 2005(11): 74-77.
- 【责任编辑 李晓卉】