

气相色谱法测定牛奶中二嗪农残留量

敖然, 曾振灵, 余静贤, 沈祥广

(华南农业大学 兽医学院, 广东 广州 510642)

摘要:建立气相色谱法测定牛奶中二嗪农残留量. 样品经丙酮处理后用正己烷提取, 用中性氧化铝柱净化, 丙酮定容后用气相色谱火焰光度检测器(FPD)测定. 检测方法的回收率为73.4%~96.2%, 批内及批间相对标准偏差(RSD)分别为3.5%~9.1%和4.9%~7.5%, 线性相关系数为0.999 9, 检测限为 $2.0 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 定量限为 $5.0 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$.

关键词:气相色谱; 牛奶; 二嗪农; 残留

中图分类号: R155.57

文献标志码: A

文章编号: 1001-411X(2011)04-0122-03

Determination of Diazinon Residues in Milk by Gas Chromatography

AO Ran, ZENG Zhen-ling, YU Jing-xian, SHEN Xiang-guang

(College of Veterinary Medicine, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

Abstract: A gas chromatographic method was developed for the determination of diazinon residues in milk. Samples dissolved in acetone were extracted with n-hexane, cleaned with neutral alumina column, and determined by gas chromatography (flame photometric detector) after volume measurement with acetone. The recoveries of the determination were 73.4%–96.2%. The values of intra and inter-assay RSD were in the range of 3.5%–9.1% and 4.9%–7.5%, respectively. The linear correlation coefficient was 0.999 9. The detection limit was $2.0 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ and the limit of quantitation remained as $5.0 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$.

Key words: gas chromatography; milk; diazinon; residue

二嗪农是少数允许在兽医上使用的有机磷农药中的一种. 在畜牧业上, 二嗪农主要用于防治牛、羊、猪的螨、蝇、虱、蜱等体外寄生虫病. 我国和欧盟对二嗪农在奶中规定了停药期(弃奶期3 d)和最大残留限量(MRLs $20 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$). 目前, 国内用于监测二嗪农残留的检测方法主要集中在蔬菜、水果、肉食品等方面, 检测牛奶中二嗪农残留的文献报道较少, 尚未有专门用于测定奶中二嗪农残留的国家标准或行业标准. 国内外有机磷农药残留的检测方法主要有液相色谱-质谱联用法^[1]、薄层色谱法^[2]、气相色谱法^[3]、气相色谱-质谱联用法^[4]等. 采用气相色谱法结合火焰光度检测器(FPD)具有特异性强、灵敏度高的特点. 此外气相色谱仪的仪器价位较低, 几乎在全国各级农产品监测机构和奶业企业均已普及. 牛奶是一种比较理想的完全营养食品, 已经成为大众饮食中不可缺少的一部分, 它的安全和品质关系到

广大民众的身体健康. 该方法的建立将有利于奶业企业对原料奶的采购和产品的生产过程进行在线检测, 也有利于基层农产品监测机构就近对奶业企业及市场奶品的产品质量安全进行有效监督.

1 材料与方法

1.1 药品与试剂

二嗪农标准品(德国 Dr. Ehrenstorfer GmbH 公司, 批号: C12210000, 纯度97.5%); 乙腈、丙酮、正己烷均为国产分析纯; 中性氧化铝固相萃取柱.

1.2 仪器

Autosystem XL GC 气相色谱仪, 配火焰光度检测器(FPD)为美国 Perkin-Elmer 公司产品; J-25 型冷冻高速离心机为德国 Baeckman 公司产品; 旋转蒸发器; 氮吹仪; KS501 digital 轨道式摇床为德国 Hettich 公司产品; 分析天平(感量 $0.000 01 \text{ g}$).

收稿日期: 2010-11-29

作者简介: 敖然(1985—), 男, 硕士研究生; 通信作者: 沈祥广(1970—), 男, 兽医师, 硕士, E-mail: shenxg@scau.edu.cn

基金项目: 农业部兽药残留检测标准制订项目(农财发[2009]193号)

1.3 试液配制

二嗪农标准贮备液:准确称取0.010 26 g二嗪农标准品至100 mL容量瓶,用丙酮定容成为100 mg·L⁻¹的二嗪农标准贮备液。

二嗪农标准溶液:根据需要精密吸取二嗪农标准贮备液适量,用丙酮稀释成质量浓度分别为20、50、100、500、1 000、2 000 μg·L⁻¹的标准溶液。

1.4 色谱条件

色谱柱:DB-17 石英毛细管柱(30 m×0.32 mm×0.25 μm),不分流进样。柱温程序:初始温度100℃,保持5 min,以30℃·min⁻¹升至260℃,保持6 min;进样口温度250℃;检测器温度250℃;载气(氮气,纯度≥99.999%)2.5 mL·min⁻¹;燃气(氢气)70 mL·min⁻¹;助燃气(空气)100 mL·min⁻¹;进样量2 μL。

1.5 样品的处理

1.5.1 样品的提取 称取牛奶10 g(精确至0.01 g),置于50 mL聚丙烯塑料离心管中,加丙酮10 mL,摇匀,加入正己烷20 mL,盖紧,置摇床振荡20 min,8 000 r·min⁻¹离心10 min,上清液移入梨形瓶中,再往离心管中加入20 mL正己烷,重复上述提取

步骤,上清液并入同一梨形瓶中,50℃减压蒸干。

1.5.2 样品的净化 取中性氧化铝固相萃取柱,加5 mL乙腈平衡,抽干;用5 mL乙腈涡旋溶解梨形瓶蒸干后的残留物,过柱,加2 mL乙腈洗柱,抽干,收集过柱液和洗柱液于10 mL玻璃的离心管中,置50℃水浴中用氮气吹干,用1 mL丙酮溶解吹干残留物,进气相色谱仪分析。

1.5.3 标准曲线制备 二嗪农基质匹配标准溶液:移取相应质量浓度下的二嗪农标准溶液1 mL溶解空白牛奶样品处理后的残留物,制得该质量浓度下的二嗪农基质匹配标准溶液,进气相色谱仪分析。

2 结果与分析

2.1 牛奶中二嗪农的线性关系

取适量相应浓度二嗪农基质匹配标准工作溶液,在“1.4”所述色谱条件下,二嗪农保留时间约9.8 min。以二嗪农的浓度对峰面积作线性回归,线性方程为 $Y=0.015X-1.630$, $r=0.9999$,式中 Y 表示二嗪农质量浓度(μg·L⁻¹), X 表示相应的峰面积响应值, r 表示相关系数。二嗪农基质匹配标准溶液、空白牛奶样品和空白牛奶添加样品的色谱分析结果见图1。

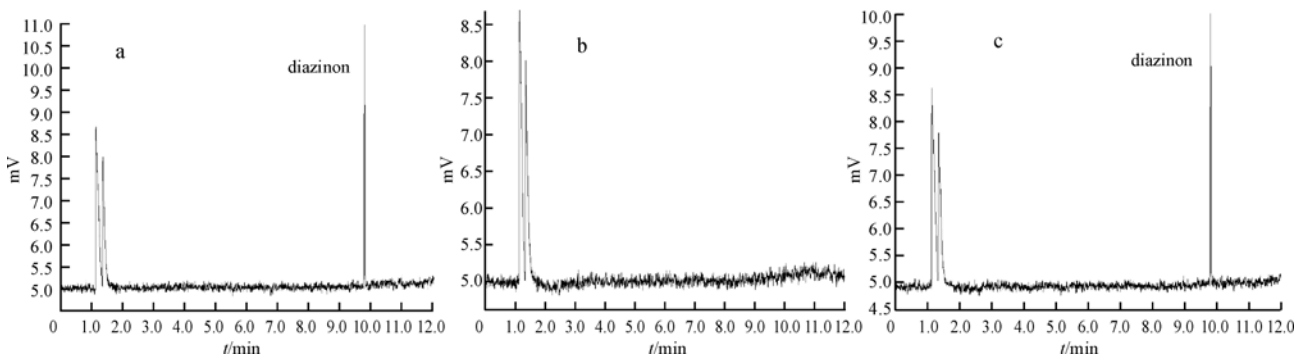


图1 二嗪农基质匹配标准溶液(0.1 μg·mL⁻¹,a)、空白牛奶样品(b)及空白牛奶添加样品(10 μg·kg⁻¹,c)的气相色谱图

Fig. 1 Chromatogram of diazinon matrix standard solution (0.1 μg·mL⁻¹, a), blank milk sample (b) and blank milk with diazinon sample (10 μg·kg⁻¹, c)

2.2 检测限

本方法的检测限采用空白牛奶样品添加标准溶液的方法进行实际测试,分别在2.0、5.0 μg·kg⁻¹水平进行测试,每批每一质量浓度重复测定5次,分别计算二嗪农峰高/噪音(S/N)比值,共进行4批次,结果质量浓度为2.0 μg·kg⁻¹的平均 S/N 为4.04±0.72($n=20$);质量浓度为5.0 μg·kg⁻¹的平均 S/N 为11.4±1.02($n=20$)。确定了方法中二嗪农检测限为2.0 μg·kg⁻¹($S/N\geq 3$),定量限为5.0 μg·kg⁻¹($S/N\geq 10$)。

2.3 回收率及变异系数

采用空白牛奶样品添加标准溶液的方法进行添加回收率试验,对方法的准确度进行测试。将适量不同质量浓度标准工作液各加入10 g空白牛奶样品

中,制得5、10和20 μg·kg⁻¹3个添加水平的样品,然后按样品处理方法处理,进行色谱分析。每一批样品均测定5次,共4批样品。二嗪农的回收率及变异系数见表1。

表1 牛奶中二嗪农不同质量浓度的回收率和变异系数

Tab. 1 Recoveries and RSD of diazinon in milk at different concentrations

ρ (二嗪农) (μg·kg ⁻¹)	平均回收率($n=5$)/%				变异系数(RSD)/%				
					批内 $n=5$				批间 $n=20$
	批1	批2	批3	批4	批1	批2	批3	批4	
5.00	84.56	82.20	81.28	81.92	7.7	6.5	8.6	9.1	7.5
10.00	86.48	84.38	85.30	88.40	7.6	6.3	6.4	4.9	6.1
20.00	85.32	86.82	86.60	88.17	4.4	6.8	6.6	5.3	5.5

3 讨论与结论

3.1 色谱条件的优化

二嗪农是一种极性相对较小的脂溶性有机磷农药,经试验,采用硫磷检测器(FPD)和中等弱极性的毛细管色谱柱(DB-17 型号)进行分析对其具有较好的选择性和灵敏度.检测器温度控制在 250 ℃时,二嗪农的响应峰较高,温度上升,峰高有下降的趋势.在本试验所用柱温程序条件下二嗪农的色谱峰宽较窄,峰形高而对称,空白牛奶试样在二嗪农色谱峰的保留时间附近无杂质峰干扰.进样室温度设置为 250 ℃,有利于被测物质有效气化,同时防止其在进样室蓄积而干扰检测,进样室温度下降或者升高,药物的色谱峰峰高均有下降的趋势.

3.2 样品处理方法的选择

3.2.1 提取与净化 比较了极性较大的有机溶剂(乙腈、丙酮或乙醇等)^[5-6]、极性较弱的有机溶剂(正己烷、乙酸乙酯或石油醚等)^[7-9]来提取牛奶中的二嗪农.因为正己烷的沸点低,极性弱,提取后携带的杂质少,对提取二嗪农有良好的选择性;同时由于提取后的溶剂含水量很低,易于蒸馏浓缩,最终采用正己烷为提取溶剂.因牛奶中含有乳化成分,容易使正己烷被乳化,所以在 10 g 牛奶中先加入 10 mL 丙酮,使蛋白质变性,同时破坏乳化.

牛奶中含有乳脂,用正己烷提取后同时也带入了脂肪,常用液液萃取或固相萃取方法进行净化^[10-11].由于选用正己烷为提取溶剂,不宜采用液液萃取的方法除脂肪,故选用固相萃取法.经对氧化铝柱、C18 柱、HLB 柱和阳离子交换柱(SCX、MCX)等进行比较,使用 1 g 规格的中性氧化铝固相萃取柱能较好去除脂肪,操作简便,二嗪农的回收率也较高,使用 2 g 规格的中性氧化铝固相萃取柱,能更好去除脂肪,但回收率有所下降(约 5%).

3.2.2 基质效应 据文献报道,关于有机磷农药在蔬菜、水果、肉类等食品中残留的气相法检测试验中,样品基质对许多有机磷农药色谱峰的响应值有增强效应^[12-13].在试验中发现,同一浓度下,含基质的二嗪农标准溶液的色谱峰面积约是用纯丙酮配制的标准溶液的色谱峰面积的 1.5 倍.因此,检测结果的计算采用欧盟推荐的基质匹配标准溶液校准法计算^[14],以抵消基质效应对检测结果的干扰.

参考文献:

[1] 刘庆斌,张睿,王海涛,等.高效液相色谱串联质谱法对

茄子中 11 种有机磷农药残留的检测[J].分析测试学报,2010,29(1):73-76.

- [2] 张蓉,花日茂,汤锋,等.6 种有机磷农药分离及水中残留高效薄层析测定方法研究[J].安徽农业科学,2009,37(14):6311-6313.
- [3] 何超,刘跃华,黄海涛,等.气相色谱法测定烟草中有机磷农药残留量[J].理化检验:化学分册,2010,46(6):663-668.
- [4] 周吴萍,岑菲菲,甄汉深.气相色谱-质谱联用法测定不同产地苦玄参中有机磷农药残留[J].时珍国医国药,2008,19(4):786-787.
- [5] 李乾坤.新鲜蔬菜中 11 种有机磷农药残留检测[J].广西热带农业,2007(109):49-52.
- [6] 赵秋香,郑志雯,张崢,等.气相色谱法测定鱼和肉中有机磷农药残留量[J].理化检验,2004,40(3):150-152.
- [7] 杨琳,严华,朱彦儒,等.气相色谱法测定水产品中有机磷的残留量[J].福建农林大学学报,2010,39(3):290-294.
- [8] 饶勇,曾振灵,刘涤洁,等.二嗪农在猪组织中的 GC-NPD 残留分析方法[J].中国兽医学报,2003,23(4):385-387.
- [9] HAJLSLOVA J, HALADOVA K, KOCOUREKV, et al. Multi-induced effects: a critical point in the gas chromatographic analysis of pesticide residues [J]. Journal of Chromatography A, 1998, 800 (2): 283-295.
- [10] LENTZA-RIZOS C, AVRAMIDES E J, CHERASCO F. Low-temperature clean-up method for the determination of organophosphorus insecticides in olive oil [J]. Journal of Chromatography A, 2001, 912(1): 135-142.
- [11] ERNEY D R. Determination of organophosphorus pesticides in whole/chocolate/skim-milk and infant formula using solid-phase extraction with capillary gas chromatography/flame photometric detection [J]. J High Resolut Chromatogr, 1995, 18(1): 59-62.
- [12] GONZALEZE F J, HERNANDEZME M E, ALMANSA E, et al. Matrix-effects of vegetable commodities in electron-capture detection applied to pesticidemultiresidue analysis [J]. Journal of Chromatography A, 2002, 966(1/2): 155-165.
- [13] HAJLSLOVA J, ZROSTLIKOVA J. Matrix effects in (ultra) trace analysis of pesticide residues in food and biotic matrices [J]. Journal of Chromatography A, 2003, 1000(1/2): 181-197.
- [14] HILLI A. Document 7826/VL/97 quality control procedures for pesticide residues analysis - guidelines for residue monitoring in the European Union [S]. Brussels: European Com-mission, 1997.

【责任编辑 柴 焰】