

实验技术与方法

气相色谱法快速测定蔬菜水果中痕量拟除虫菊酯

吕 芬 梁春穗 黄伟雄 陈 明
(广东省疾病预防控制中心,广东 广州 510300)

摘 要:目的 建立一种快速、准确测定蔬菜水果中拟除虫菊酯残留量的气相色谱法,并应用于广东省食品化学污染物网络监测工作中。方法 用石油醚提取,浓缩后经 Florisil 固相萃取柱净化,用气相色谱-电子捕获检测器测定,色谱柱为 DB-1 石英毛细管柱(30 m×0.25 mm×0.25 μm)。结果 小白菜中的平均回收率为 86.2%~93.4%,相对标准差为 3.4%~8.6%;苹果中的回收率为 87.3%~92.8%,相对标准差为 2.8%~8.1%。检测了 511 份蔬菜水果样品中 5 种拟除虫菊酯的残留量,检出率为 17.4%,超标率为 0.59%。结论 与 GB/T 5009.146—2003 比较,方法快速、准确、分析成本低,能满足拟除虫菊酯类农药痕量残留快速分析的要求。
关键词:除虫菊酯类;蔬菜;水果;色谱法;气相

Rapid Determination of Pyrethroid Pesticide Residues in Vegetables and Fruits by Gas Chromatography

L Ü Fen , LIANG Chun-sui , HUANG Wei-xiong , CHEN Ming

(Guangdong Province Center for Disease Control and Prevention , Guangdong Guangzhou 510300 , China)

Abstract : Objective To establish a rapid method for determination of pyrethroid pesticide residues in vegetables and fruits , and to monitor chemical pollution in foods in Guangdong province. **Method** The pesticide residues of samples were extracted with petroleum ether , concentrated and cleaned up by Florisil solid phase extraction column , and then determined by gas chromatography with electron detector. The column was DB-1 capillary column (30 m×0.25 mm×0.25 μm). **Results** When

[4] 齐红莉,张树林,戴伟. 农药对水产动物毒理的研究现状[J]. 水利渔业,2005,25(1):73-75.

[5] MOYE H A, SCHERER S J, ST JOHN P A. Dynamic fluorogenic labeling of pesticides for high performance liquid chromatography: Detection of N-methylcarbamates with O-phthalaldehyde [J]. Analytical Letters,1977,10:1049-1073.

[6] KRAUSE R T. Liquid chromatographic determination of N-methylearbamate insecticides and metabolites in crops [J]. J AOAC Int, 1985,68(4):726-733.

[7] KRAUSE R T. High-performance liquid chromatographic determination of aryl N-methylcarbamate residues using post-column hydrolysis electrochemical detection [J]. J Chromatogr,1988,442:333-343.

[8] HIEMSTRA DE K. Optimization, automation, and validation of the solid-phase extraction clean up and on-line liquid chromatographic determination of N-methylcarbamate pesticides in fruits and vegetables [J]. J AOAC Int, 1992,75(6):1063-1072.

[9] 蒋新明,蔡道基,华晓梅. 高效液相色谱柱后衍生法用于氨基甲酸酯类农药的测定[J]. 色谱,1994,12(1):32-34.

[10] 于文莲,王超,储晓刚. 高效液相色谱柱后衍生法测定谷物中9种氨基甲酸酯类农药及3种代谢物残留量[J]. 色谱,1998,15(5):430-432.

[11] ALI M S. Determination of N-methylearbamate pesticides in liver by liquid chromatography[J]. J AOAC Int,1989,72(4):586-592.

[12] ALI M S, WHITE J D, BAKOWSKI R S, et al. Extension of a liquid chromatographic method for N-methylearbamate pesticides in cattle, wine, and poultry liver[J]. J AOAC Int, 1993,76(4):907-910.

[13] STAN H J. Pesticide residue analysis in foodstuffs applying capillary gas chromatography with mass spectrometric detection State-of-the-art use of modified DFG-multimethod S19 and automated data evaluation [J]. Journal of Chromatography A,2000,892:347-377.

[14] 任一平,张晶,铁晓威,等. 叶菜中有机磷类农药多组分残留的快速分析[J]. 中国食品卫生杂志,2006,18(2):127-134.

[收稿日期:2008-05-18]

中图分类号:R15;O657.72;S482.43 文献标识码:B 文章编号:1004-8456(2008)05-0409-05

基金项目:广东省食品污染物网络监测及动态研究(2006B21001016)

作者简介:吕芬 女 技师

pesticide residues in vegetables and fruits were at the 5.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ level, the mean recovery in pakchois ranged from 86.2 % to 93.4 %, and the relative standard deviation was from 3.4 % to 8.6 %. The mean recovery of apples ranged from 87.3 % to 92.8 %, and the relative standard deviation was from 2.8 % to 8.1 %. 5 pyrethroid pesticide residues from 511 vegetable and fruit samples were detected. The detection rate of pyrethroid residues was 17.4 % and the over-standard rate was 0.59 %. **Conclusion**

Compared with GB/T 5009.146—2003, the method could be rapid, accurate and suitable for fast analysis of pyrethroid pesticide residues in vegetables and fruits.

Key word: Pyrethrins; Vegetables; Fruit; Chromatography, Gas

拟除虫菊酯 (Pyrethroids) 是一类具有广谱、高效、低毒和生物降解等特性的合成杀虫剂^[1], 是近年来较广泛应用的农药, 但由于其抗性与环境安全性等问题而被列为多种农产品农药残留重点监测对象^[2]。2000 - 2007 年在广东省各食品化学污染物监测网点开展的农药残留检测数据显示, 蔬菜水果中拟除虫菊酯类农药残留检出率相对较高。食品中各类农药残留的检测是广东省食品化学污染物网络监测的重要内容。为保证检测结果的可靠性, 在各监测网点现场采样后, 当日在监测网点实验室进行样品前处理, 提取液在低温条件下尽快运回广东省疾病预防控制中心实验室, 然后进行净化处理和气相色谱分析。从样品采集到报出检测结果要求 1 周内完成。

由于监测工作的特殊性, 要求利用各监测网点有限的实验条件在短时间内完成大批量样品的前处理, 为此, 我们通过大量的实验对 GB/T 5009.146—2003《植物性食品中有机氯和拟除虫菊酯类农药多种残留的测定》中的方法进行了改进和优化, 以适应监测工作的需要。

1 材料与方法

1.1 主要试剂和仪器

1.1.1 试剂 石油醚 (沸程 30~60 $^{\circ}\text{C}$, 分析纯, 重蒸)、乙酸乙酯 (分析纯, 重蒸)、无水硫酸钠 (分析纯, 550 $^{\circ}\text{C}$ 灼烧 6 h)、Florisil 固相萃取柱 (3 ml, 0.5 g)。

1.1.2 拟除虫菊酯标准品 氯菊酯、氟氯氰菊酯、氯氰菊酯、氰戊菊酯、溴氰菊酯, 浓度均为 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 溶剂为石油醚, 农业部环境保护科研检测所研制。

标准溶液的配制 分别将各标准品用石油醚稀释成 10.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 储备液, 再分别吸取各储备液 0.50 ml 于 100 ml 容量瓶中, 用石油醚定容至刻度作为标准使用液, 各菊酯的浓度均为 0.05 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 。

1.1.3 固相萃取柱的制备 在 3 ml 的空柱中先垫一片筛板后, 填入 0.5 g 的 Florisil 吸附剂, 其上铺一薄层无水硫酸钠, 再压上一片筛板。

1.1.4 仪器 GC-2010 气相色谱仪附电子捕获检测器 (SHIMADZU, 日本)、固相萃取仪 (Caliper, 美国)、N - EVAPIM 111 氮吹仪 (Organomation

Associates, 美国)、超声波振荡器 (恒奥)、电动搅拌机 (飞利浦)。

1.2 试样前处理

1.2.1 试样提取 取蔬菜水果的可食用部分 100 g, 切碎混匀, 称取 10.0 g 于搅拌杯中, 加入适量无水硫酸钠, 搅拌至呈干粉状, 转移至具塞锥形瓶中, 加入石油醚浸泡 (以浸过固体表面为宜, 约 80~100 ml), 超声提取 20 min 或浸泡过夜。将浸泡液全量倾入小烧杯中, 并用 20 ml 石油醚分 2 次洗涤残渣, 并入小烧杯中, 在 60 $^{\circ}\text{C}$ 水浴上挥至近干, 用石油醚溶解残留物转移至 5 ml 比色管中, 定容至 5.0 ml 即为提取液。

1.2.2 试样净化 采用固相萃取仪 (SPE) 运行设定的程序可对提取液进行批量净化处理。先用 4 ml 石油醚预淋洗固相萃取柱, 待石油醚完全流出后, 吸取 2.0 ml 提取液加到萃取柱上 (弃去流出液), 用 5 ml 混合溶剂 (石油醚 + 乙酸乙酯 = 95 + 5) 洗脱, 并收集洗脱液, 在 60 $^{\circ}\text{C}$ 水浴中氮吹浓缩并准确定容至 1.0 ml 即可进行气相色谱分析。

1.3 气相色谱分析

1.3.1 色谱条件 色谱柱: DB-1, 30 m $\times$ 0.25 mm $\times$ 0.25 μm ; 载气 (氮气), 流速: 1.5 ml/min, 恒流; 吹扫流速: 3.0 ml/min; 尾吹气 (氮气) 流速: 30 ml/min; 进样口温度: 270 $^{\circ}\text{C}$; 检测器温度: 300 $^{\circ}\text{C}$; 柱温程序: 起始 100 $^{\circ}\text{C}$, 恒温 1 min 后以 20 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 的速率升至 230 $^{\circ}\text{C}$, 恒温 38 min 后以 20 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 的速率升至 250 $^{\circ}\text{C}$, 恒温 10 min 后以 20 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 的速率升至 270 $^{\circ}\text{C}$, 恒温 5 min; 进样量 1.0 μl ; 无分流进样。

1.3.2 测定 采用自动进样器进样, 在相同的气相色谱条件下, 分别将 5 种菊酯的标准品及其混合标准品 (浓度均为 0.05 $\mu\text{g}/\text{ml}$) 进行气相色谱分析, 以保留时间定性, 确定混合标准品中各菊酯所对应的峰。

试剂空白、试样空白、加标试样和混合标准品都在同一色谱条件下进行测定, 以保留时间定性, 以试样峰面积与标准比较定量, 并计算回收率。

2 结果与讨论

2.1 无水硫酸钠的用量

样品前处理所需无水硫酸钠的量必须根据样品的含水量进行调整。比如梨、橘子等含水量较多的样品需加入较多的无水硫酸钠才能保证完全吸收样品的水分,而韭菜、椰菜等含水量较少的样品无水硫酸钠的加入量可相对少些。一般无水硫酸钠的加入量为 40~80 g,以刚好吸掉样品的水分并稍过量为宜,以使样品研磨后呈干粉状为判断标准。若样品中水分吸附不完全,可能会堵塞固相萃取柱,影响净化效果,而且待测液中含有的水分会对电子捕获检测器 ECD 造成损害。但过多的无水硫酸钠需要更多的试剂浸泡,不仅造成浪费,也延长了溶剂挥发浓缩的时间,对待测组分的提取率也会有所影响。

2.2 提取溶剂的选择

GB/T 5009.146—2003 提取使用丙酮和石油醚混合溶剂^[3],但存在净化步骤较多,溶剂的消耗量大,前处理周期过长等缺点。可能影响样品中痕量残留量分析的精密度和准确度。有文献报道^[4],采用乙腈提取效果较好,杂质少,但乙腈的毒性较大,而且蔬菜水果中的水分难以分离。用乙酸乙酯作提取溶剂效果也较好^[5],但水浴挥发溶剂需要的时间较长,考虑到各监测网点的实验条件限制以及样品批量较大,乙酸乙酯不是一种合适的提取溶剂。本方法采用无水硫酸钠吸附样品中的水分,再用石油醚提取。实验结果表明本法提取率较高,且消除了水分干扰,有利于进行固相萃取(SPE)净化处理,样品加标回收率能达到要求。

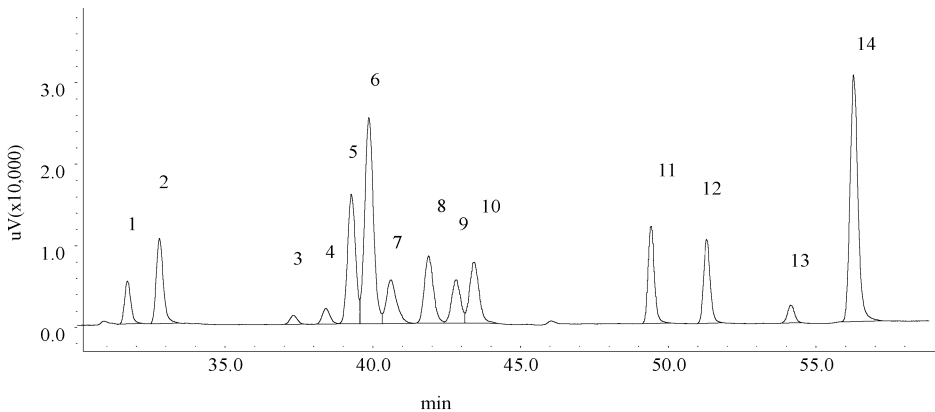
2.3 净化方法的选择

对 GB/T 5009.146—2003 采用的净化柱进行了改良,所用吸附剂的量由 5 g 减少为 0.5 g,有机溶剂的使用量由 120 ml 减少为 9 ml,很大程度上简化了浓缩、转移和定容的次数,有利于提高分析的灵敏度和准确度,以适用于全省食品化学污染物网络监测所采用的流动实验室前处理工作方式,以及痕量残留定性、定量分析的要求,同时节约了实验成本,节省了时间,减少了对环境的污染。

在样品提取液的净化过程中,要特别注意那些颜色很深、杂质偏多的样品,如韭菜、菜心等样品。此类样品可先在提取液中加入少量活性炭粉末,充分摇匀,静置片刻,再取上清液经 SPE 净化。

2.4 气相色谱分析

拟除虫菊酯类化合物存在同分异构体,GB/T 5009.146—2003 没有对拟除虫菊酯同分异构体进行分离。随着毛细管色谱柱的发展应用,越来越多的拟除虫菊酯在气相色谱中实现了同分异构体的有效分离^[6]。本方法主要通过调整载气流速和柱温程序,使拟除虫菊酯各同分异构体得到较好的分离效果,其中氯菊酯、氰戊菊酯和溴氰菊酯均有 2 个色谱峰,氟氯氰菊酯和氯氰菊酯均有 4 个色谱峰,见图 1。通过对各同分异构体的分离可以有效提高定性定量分析的准确度和灵敏度。通常样品中检出的拟除虫菊酯也是各同分异构体同时存在,这样分析测定的结果更可靠。图 2 和图 3 分别为检出了氯氰菊酯的韭菜花样品和检出了氰戊菊酯的豆角样品色谱图。



注:1,2 为氯菊酯;3,4,5,6 为氟氯氰菊酯;7,8,9,10 为氯氰菊酯;11,12 为氰戊菊酯;13,14 为溴氰菊酯。

图 1 5 种拟除虫菊酯混合标准品的色谱图

分析纯石油醚中有些杂质在电子捕获检测器(ECD)上有响应,虽然在本方法的色谱条件下,溶剂杂质一般在待测组分之前出峰,不会影响待测组分的定性定量分析,但考虑到某些有电负性的杂质会对 ECD 有损害,有机溶剂最好重蒸后再使用。

2.5 方法的准确度和精密度

为了考察本方法测定拟除虫菊酯农药的灵敏度、准确度和精密度,分别对小白菜和苹果进行了添加菊酯标准品的回收试验,每个试样在同一添加水平重复 3 次,标准品的添加量均为 10.0 g 试样中加入 1.0 ml 浓度 0.05 μg/ml 的混合标准溶液。实验结果显示,小白菜的平均添加回收率为 86.2 %~

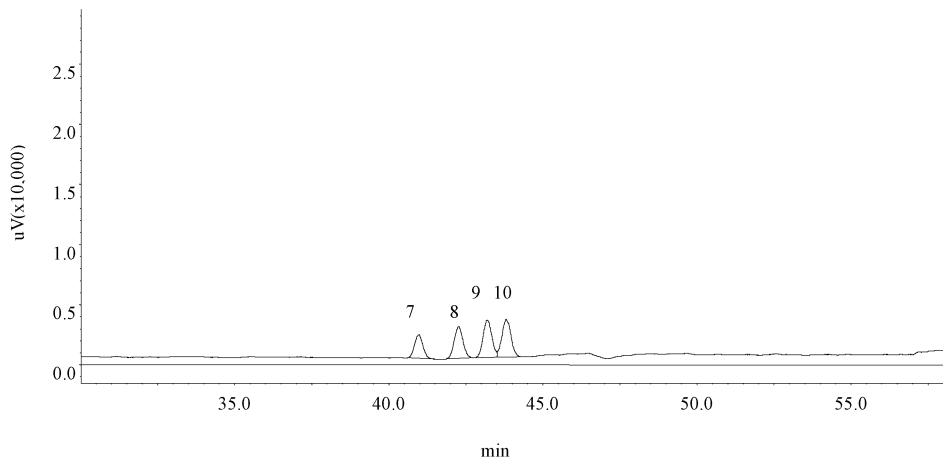


图2 韭菜花样品的色谱图(色谱峰7,8,9,10为氯氰菊酯)

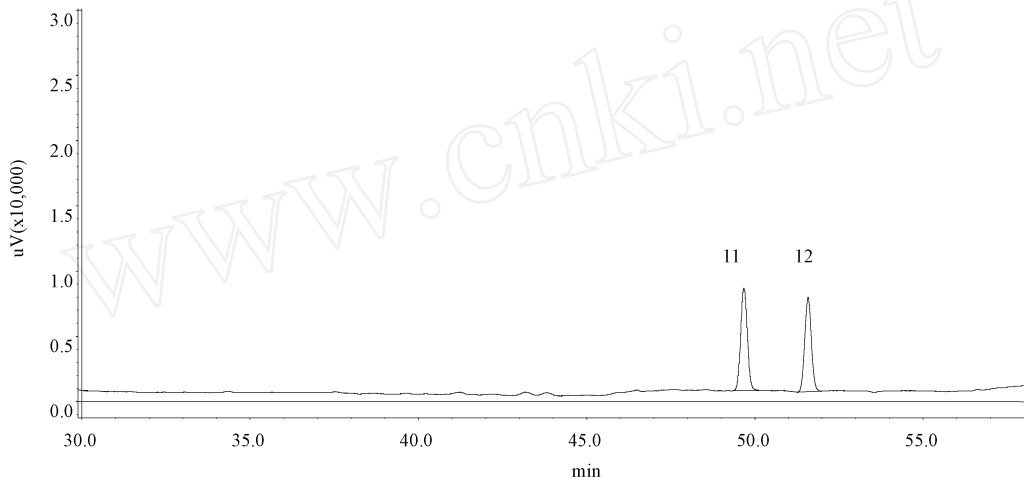


图3 豆角样品的色谱图(色谱峰11,12为氰戊菊酯)

93.4%,相对标准差为3.4%~8.6%;苹果的平均添加回收率为87.3%~92.8%,相对标准差为2.8%~8.1%,详见表1。结果表明,该方法测定拟除虫菊酯的准确度和精密度较好,可以满足农药残留痕量分析的要求。

表1 加标回收试验结果 (n=3)				
农药名称	小白菜		苹果	
	平均回收率(%)	相对标准偏差(%)	平均回收率(%)	相对标准偏差(%)
氯菊酯	88.7	4.1	89.5	3.8
氟氯氰菊酯	90.7	8.6	91.2	8.1
氯氰菊酯	86.2	3.9	87.3	4.2
氰戊菊酯	90.2	3.4	92.8	2.8
溴氰菊酯	93.4	5.3	90.2	6.0

2.6 方法的检出限、各组分保留时间

根据测定时的称样量、定容体积、标准物质的响应值、检测器的灵敏度、空白试样的噪音水平等因素来确定每种拟除虫菊酯的检出限,结果明显低于GB/T 5009.146—2003的检出限,详见表2。

2.7 监测结果分析

2006 - 2007 年在各监测网点采集了 511 份样品,包括 449 份蔬菜和 62 份水果,进行了 5 种拟除虫菊酯的检测分析。511 份样品中拟除虫菊酯检出率为 17.4%,超标率为 0.59%,检出浓度范围 0.01~2.92 mg/kg。在检出了拟除虫菊酯的 89 份样品中,有 60 份样品的残留量低于 0.10 mg/kg,占检出样品的 67.4%。

表2 拟除虫菊酯的保留时间和方法检出限				
农药名称	色谱峰编号	保留时间 (min)	本方法检出限 (μg/kg)	国标法检出限 (μg/kg)
氯菊酯	1,2	31.708; 32.788	0.50	16
氟氯氰菊酯	3,4,5,6	37.314; 38.423; 39.277; 39.864	0.14	-
氯氰菊酯	7,8,9,10	40.618; 41.882; 42.833; 43.440	0.45	-
氰戊菊酯	11,12	49.431; 51.297	0.37	3.0
溴氰菊酯	13,14	54.135; 56.274	0.21	1.6

注:“-”为未给出具体数值。

从表 3 的检测结果可以看出,不同种类蔬菜的检出率相差较大,其中豆类蔬菜的检出率最高,达到 34.0%,其次是叶类蔬菜,检出率为 20.2%,水果检出率为 17.7%。由于取样是取可食用部分,故水果中有检出的样品都是不需去皮食用的,如桃、杨桃和梨等,而去皮后的水果,如橘子、香蕉等均未检出。叶类蔬菜的拟除虫菊酯检出率较高,而且不同品种叶菜的检出率差别很大,详见表 4。其中菜心和小白菜检出率较高,分别为 47.8%和 37.0%。

表 3 各类蔬菜水果中拟除虫菊酯残留情况

样品种类	样品份数	检出份数	检出率 (%)	检出浓度范围 (mg/kg)
豆类蔬菜	50	17	34.0	0.010~1.480
叶类蔬菜	242	49	20.2	0.010~1.970
水果	62	11	17.7	0.013~0.110
果类蔬菜	89	10	11.2	0.013~2.920
花菜	27	1	3.7	0.010
鲜食用菌	41	1	2.4	0.070
合计	511	89	17.4	0.010~2.920

注:“果类蔬菜”包括茄子、黄瓜、辣椒。

表 4 不同品种叶类蔬菜中拟除虫菊酯残留情况

样品名称	样品份数	检出份数	检出率 (%)	检出浓度范围 (mg/kg)
菜心	23	11	47.8	0.015~1.970
小白菜	27	10	37.0	0.010~0.750
空心菜	35	9	25.7	0.060~0.800
其他青菜	15	3	20.0	0.015~0.270
菠菜	16	3	18.8	0.012~0.090
生菜	22	4	18.2	0.033~0.860
韭菜	52	8	15.4	0.013~0.110
卷心菜	52	1	1.9	0.072
合计	242	49	20.2	0.010~1.970

注:“其他青菜”包括油菜、芥菜、芹菜、苋菜等。

所监测的 5 种拟除虫菊酯检出率最高的是氯氰菊酯 (11.2%),其次是氰戊菊酯 (2.9%) 和氯菊酯 (2.7%),而氟氯氰菊酯和溴氰菊酯都很少有检出,检出率小于 1.0%。

2000 - 2005 年在广东省各监测网点检测蔬菜水果中各种农药残留检出率分别为:有机磷 10.3%,三氯杀螨醇 5.1%,氨基甲酸酯 5.4%,而拟除虫菊酯为 30.9%^[7]。总体监测结果表明,广东省主要蔬菜水果中拟除虫菊酯类农药的使用普遍高于其他类农药,但残留量一般不高。

参考文献

[1] 陈剑刚, 朱克先, 张亦庸, 等. 固相萃取 - 气相色谱 - 质谱联用测定水体中拟除虫菊酯残留[J]. 现代预防医学, 2005, 32 (6): 648-650.

[2] 张存政, 徐金男, 骆爱兰, 等. 菊酯类农药在梨中的多残留测定方法研究[J]. 现代农药, 2004, 3(4): 16-18.

[3] GB/T 5009.146—2003. 食品卫生检验方法 - 理化部分[S].

[4] 蒋定国, 方从容, 杨大进, 等. 测定茶叶中 27 种有机氯和拟除虫菊酯农药多组分残留气相色谱法[J]. 中国食品卫生杂志, 2005, 17(5): 385-389.

[5] SHARIF Z, MAN Y B, HAMID N S, et al. Determination of organochlorine and pyrethroid pesticides in fruit and vegetables using solid phase extraction clean - up cartridges [J]. J Chromatogr A. 2006, 1127(1-2): 254-261.

[6] YOU J, LYDY M J. A solution for isomerization of pyrethroid insecticides in gas chromatography[J]. J Chromatogr A. 2007, 1166 (1-2): 181-190.

[7] 邓峰, 梁春穗, 黄伟雄, 等. 2000 - 2005 年广东省食品化学污染物网络监测与危害分析[J]. 中国食品卫生杂志, 2007, 19 (1): 1-9.

[收稿日期:2008 - 05 - 21]

中图分类号:R15;O657.71;S482.35 文献标识码:B 文章编号:1004 - 8456(2008)05 - 0413 - 05

消息(二)

怎样正确选择牛奶(2)

巴氏消毒奶

奶品解读 巴氏消毒奶通常是指将奶加热到 75℃至 80℃,进行 10 至 15 秒的杀菌,瞬间杀死致病微生物,属非无菌灌装,但其细菌含量不会对健康造成威胁。

优点 口感、风味上较接近原奶的水平,营养价值与鲜牛奶差异不大,B 族维生素的损失仅为 10%左右。

缺点 牛奶中的一些生理活性物质可能会失活。

适宜人群 所有对牛奶不过敏的人,当然有条件的婴幼儿还是饮配方奶最好。

贮存条件 保质期是 7 天到 15 天,最长不超过 16 天,保存期短,对储存条件有要求,一般为 2℃至 6℃。

包装标识 一般有塑料袋、玻璃瓶、新鲜屋等包装。