

实验技术与方法

检测霜霉威的两种方法的比较

唐晓宾¹ 许 泓² 万志全³ 曹学军² 菅丽萍¹ 李建芳¹ 赵 鹏² 万积成¹(1. 北京万华生物工程有限公司, 北京 100018; 2. 天津出入境检验检疫局, 天津 300201;
3. 海南大学三亚学院, 海南 三亚 230001)

摘 要:目的 比较胶体金法与液相色谱-质谱质谱联用法(LC-MS/MS)在霜霉威检测中的应用。证实胶体金试纸检测蔬菜中霜霉威残留的可靠性,并以此为基础建立一个新的检测手段。方法 通过胶体金试纸条半定量方法检测的试样,再用液/质谱法联用定量检测试样中的霜霉威。结果 胶体金试纸检测为阴性的100个试样,经液/质谱法联用检测结果为未检出,符合率为100%。添加霜霉威的胶体金试纸检测阳性的试样经液/质谱法联用检测,符合率为100%,添加的Cutoff值样品回收率达到93%。结论 与液/质联用检测法相比较,胶体金法检测霜霉威具有操作简便、观察直观、快速、省时的特点,特异性强、敏感性较高,从而为检测霜霉威提供了一种快速的检测方法。

关键词:霜霉属;蔬菜;胶体金;色谱法;液相

Comparison on Two Methods for Detection of Propamocarb

TANG Xiao-bin, XU Hong, WAN Zhi-quan, CAO Xue-jun, JIAN Li-ping, LI Jian-fang,
ZHAO Peng, WAN Ji-cheng

(Beijing Wanhua Bioresearch Technology Corporation, Beijing 100018, China)

Abstract: Objective To compare the two methods of colloidal gold strip and liquid chromatography with electron capture for detection of propamocarb in order to make sure the reliability of colloidal gold strip for determination of propamocarb residues.

Method The propamocarb of samples were detected by colloidal gold strip for semi-quantitative analysis, and determined by liquid chromatography with electron capture for quantitative analysis again. **Results** 100 cases of negative samples detected by colloidal gold strip were not detected by liquid chromatography with electron capture, and the coincidence rate was 100%. The positive samples detected by colloidal gold strip were detected by liquid chromatography with electron capture, and the coincidence rate was 100%. The recovery rate of sample added cutoff value was 93%. **Conclusion** In comparison with liquid chromatography with electron capture, the colloidal gold method was simple, accurate, time-saving and fast. It could be a rapid method for determination of propamocarb.

Key word: Peronospora; Vegetables; Gold Colloid; Chromatography; Liquid

霜霉威(propamocarb)又名普力克,化学名称N-[3-(二甲基氨基)丙基氨基甲酸丙酯],是一种新型、高效、内吸性杀菌剂,可抑制病菌细胞膜的形成,减少孢子囊形成和游动孢子数量,从而达到防治病害的目的。霜霉威对防治蔬菜、果树的霜霉病、疫病、猝倒病有优异的效果,适用于叶面喷雾和土壤处理,霜霉威还具有促进作物生长的作用^[1]。霜霉威对高等动物低毒,对家兔眼睛和皮肤无刺激性。虽然,霜霉威是高效低毒低残留产品,我国对于农作物中霜霉威的残留限量尚无明确标准可循,但是,美国出台的新规定要求霜霉威在果菜上的残留限量为2 mg/kg^[2]。日本肯定列表对霜霉威也有一定的限

量规定,在菠菜、葱、番茄、西兰花上的残留限量分别为10、3、1和2 mg/kg,在大白菜上的残留限量为0.5 mg/kg。据介绍,霜霉威在我国生产和使用的数量都比较多,美国和日本都是我国主要的农产品贸易伙伴,这两国实施的农药残留新标准及残留限量,将对我国的农产品出口产生重大的影响,因此,对霜霉威残留快速检测技术的研究迫在眉睫。

本文介绍了霜霉威胶体金竞争法检测试纸与液相色谱-质谱/质谱联用(LC-MS/MS)的比对试验,证实霜霉威胶体金试纸条检测蔬菜中霜霉威残留的可靠性。

1 材料与方法

1.1 材料

万华牌霜霉威胶体金快速检测试纸,批号为20070908,试纸检测Cutoff界限值为0.5 mg/kg。普力

基金项目:国家“十五”重大项目“食品安全关键技术”(2001BA804A17-7);国家“十一五”重大科技支撑项目(2006BAK02A23)
作者简介:唐晓宾 女 工程师

克(72.2 %霜霉威水剂),德国拜耳作物科学公司产品。霜霉威标准品,100 μg/ml,农业部环境保护科研监测所。前处理所用试剂均为国产分析纯。

液相色谱 - 串联质谱联用仪 API4000 ,Agilent - AB 公司,美国;高速组织捣碎机 T25 ,IKA 公司,德国;氮吹仪 N - EVAPI12 ,OA 公司,美国。

样品来源 样品采自天津某集团西兰花出口基地的西兰花。

1.2 方法

1.2.1 取样及样品处理 采用随机抽样法从基地送检的使用过普力克农药的西兰花样品中抽取 100 份样品作为抽检样品。

为验证试纸条灵敏度,作霜霉威添加试验。取未施药的西兰花样品100 g作为一份试样,每100 g样品中添加霜霉威0.05 mg作为 Cutoff 值试样,Cutoff 值试样共 10 份;同样,取100 g样品添加0.5 mg以上霜霉威作为阳性试样,阳性试样共 10 份。

1.2.2 霜霉威胶体金快速检测试纸法 选取有代表性的西兰花试样,擦去表面泥土,榨汁处理后加入 15 %氯化钠混匀,静置6 min以上。

将试纸条 MAX 端浸入试样液中(液面不得超过 MAX 线),此时试样液在毛细管作用下向试纸条的另一端缓缓移行,将固相的金标抗体溶解并带动它向前移行。1 ~ 5 min时从视窗中观察结果,观察时间最长不超过5 min。阴性:在检测区(T)及控制区(C)各出现一条红线,说明试样中霜霉威残留量小于0.5 mg/kg,视为霜霉威残留不超标;阳性:仅在控制区(C)出现一条红线,说明试样中霜霉威残留量大于0.5 mg/kg,视为霜霉威残留超标;Cutoff 值:在控制区(C)出现一条红线,在检测区(T)出现模糊阴影,视为霜霉威残留量在0.5 mg/kg左右。

1.2.3 液相色谱 - 串联质谱法 将霜霉威胶体金试纸条检测过的西兰花试样进行液相色谱 - 串联质谱比对试验。

采用国家标准 GB/T 20769 —2006 液相色谱 - 串联质谱法(LC - MS/MS)进行。霜霉威检出限为 0.01 mg/kg。样品前处理按照《水果和蔬菜中 405 种

农药及相关化学品残留量的测定方法》中的方法处理^[3]。本实验仅检测霜霉威一种残留农药,所以,LC - MS/MS 检测时液相流动相改用乙腈 + 水(50 + 50,体积比),其他参数参照标准方法。

2 结果与分析

2.1 霜霉威胶体金试纸条检测结果

对抽检的 100 份西兰花试样用霜霉威胶体金试纸条进行检测,结果 100 份试样检测后试纸条都出现 2 条红线,为阴性表现,说明试样中霜霉威残留量小于0.5 mg/kg;将添加的阳性试样进行检测,试纸条出现一条红线,为阳性表现,说明试样中霜霉威含量大于0.5 mg/kg;将添加的 Cutoff 值试样进行检测,结果在试纸条的控制区(C)出现一条红线,在检测区(T)出现模糊阴影,说明霜霉威含量在0.5 mg/kg 左右。

2.2 液相色谱 - 质谱/质谱联用法与试纸条检测结果比对

液相色谱 - 质谱/质谱联用法检测霜霉威胶体金试纸条检测过的试样,检测结果见表 1。

由表中可以看出,LC - MS/MS 检测添加的西兰花阳性试样,霜霉威残留量均在0.5 mg/kg以上,在胶体金试纸条设置的 Cutoff 值之上,结果与胶体金试纸检测结果相符,符合率为 100 %。

经LC - MS/MS 检测,添加的西兰花 Cutoff 值的试样霜霉威平均残留量为0.466 8 mg/kg,回收率为 93 %。

LC - MS/MS 检测霜霉威胶体金试纸检测的阴性试样,100 份试样中均未检出霜霉威残留,LC - MS/MS 检出限为0.01 mg/kg,在胶体金试纸条设置的 Cutoff 值以下,结果与胶体金试纸检测结果相符,符合率为 100 %。

3 讨论

胶体金试纸条在医学检验方面已得到广泛使用,然而在农业上用做检测手段尚处在初始阶段,本文的对比结果表明,胶体金试纸条在农业上也有很好的使用价值和前景。

表 1 西兰花的液相色谱 - 质谱/质谱联用(LC - MS/MS)法检测结果						mg/kg
西兰花阳性试样	LC - MS/MS 检测结果	西兰花 Cutoff 试样	LC - MS/MS 检测结果	西兰花阴性试样	LC - MS/MS 检测结果	
1	6.56	1	0.49	1 ~ 10	未检出	
2	8.15	2	0.48	11 ~ 20	未检出	
3	7.89	3	0.45	21 ~ 30	未检出	
4	7.72	4	0.43	31 ~ 40	未检出	
5	7.46	5	0.46	41 ~ 50	未检出	
6	7.80	6	0.44	51 ~ 60	未检出	
7	8.17	7	0.41	61 ~ 70	未检出	
8	8.06	8	0.50	71 ~ 80	未检出	
9	8.06	9	0.48	81 ~ 90	未检出	
10	7.55	10	0.47	91 ~ 100	未检出	

注:LC - MS/MS 检出限为 0.01 mg/kg。

实验技术与方法

胶体金试纸与气相色谱法检测毒死蜱结果相符率比较

万积成¹ 赵成森² 姚家彪³ 邵凤云⁴ 钱敬泽² 菅丽萍¹ 唐晓宾¹ 李建芳¹(1. 北京万华生物工程有限公司, 北京 100018; 2. 河北邯郸市土壤肥料站农业环保站, 河北 邯郸 056001;
3. 沈阳出入境检验检疫局, 辽宁 沈阳 110016; 4. 河北邯郸市农产品检测中心, 河北 邯郸 056005)

摘要:目的 通过研究胶体金法与气相色谱法在检测毒死蜱中的应用, 证实胶体金试纸条在检测蔬菜中毒死蜱残留的可靠性。方法 对比胶体金试纸半定量法和气相色谱定量法检测毒死蜱的结果。结果 胶体金试纸条检测阴性样品得出的结果与气相色谱的结果符合率为 100%, 添加的阳性样品符合率也达到 100%。添加的界限值样品的回收率达到 96%。结论 与气相色谱法相比较, 胶体金试纸检测毒死蜱操作简便、观察直观、快速、省时, 其特异性、敏感性较高, 可作为蔬菜采摘前毒死蜱农药残留自我检测的手段。并可以此为基础建立一个不同于以前的毒死蜱监管模式。

关键词:毒死蜱; 蔬菜; 色谱法; 气相; 胶体金

Comparison on Results of Chlorpyrifos Determined by Colloidal Gold Strip and Gas Chromatography

WAN Ji-cheng, ZHAO Cheng-sen, YAO Jia-biao, SHAO Feng-yun, QIAN Jing-ze,

JIAN Li-ping, TANG Xiao-bin, LI Jian-fang

(Beijing Wanhua Bioresearch Technology Corporation, Beijing 100018, China)

Abstract: **Objective** To study the application of colloidal gold strip and gas chromatography to chlorpyrifos in order to make sure the reliability of colloidal gold strip for determination of chlorpyrifos residues in vegetables. **Method** The chlorpyrifos of samples were detected by colloidal gold strip for semi-quantitative analysis, and determined by gas chromatography for quantitative analysis again. Then the results of two methods were compared. **Results** The negative samples detected by colloidal gold strip were not detected by gas chromatography, and the coincidence rate was 100%. The positive samples detected by colloidal gold strip were detected by gas chromatography, and the coincidence rate was 100%. The recovery rate of sample added cutoff value was 96%. **Conclusion** In comparison with gas chromatography, the colloidal gold strip method was simple, accurate, time-saving and fast. It could be a rapid method for determination of chlorpyrifos.

Key word: Chlorpyrifos; Vegetables; Chromatography, Gas; Gold Colloid

天津出入境检验检疫局在出口蔬菜未采摘前派人对生长的蔬菜抽样检测, 检测合格后方允许采摘。检测不合格则待农药降解至合格后再采摘。但是在蔬菜出口量大, 出口比较集中的时候, 这种模式会给检测带来压力, 液相或气相色谱法往往难以应付。胶体金试纸条方法可以减轻这种压力, 还能加大抽样密度, 从而提高抽检质量。胶体金试纸条的出现为控制农药残留提供了一种新的快速的检测手段, 能够从源头对农药残留进行把关。

参考文献

- [1] 程伯英. 菜园农药手册[M]. 北京: 中国农业出版社, 2002, 10: 233 - 237.
- [2] 美国拟出台霜霉威农药残留标准[J]. 农化市场十日讯, 2006, 2: 31.
- [3] GB/T 20769—2006. 水果和蔬菜中 405 种农药及相关化学品残留量的测定 液相色谱-串联质谱法[S].

[收稿日期: 2008 - 08 - 05]

中图分类号: R15; S482.2; O657.72

文献标识码: B

文章编号: 1004 - 8456(2009)01 - 0036 - 03

基金项目: 国家“十五”重大项目“食品安全关键技术”(2001BA804A17 - 7)

作者简介: 万积成 男 主任医师