

气相色谱法测定大黄鱼中多种农药残留的研究

钟茂生 梁剑 江晓芬 朱品玲 陈舒奕 叶海峰

(宁德出入境检验检疫局 福建 宁德 352100)

摘要:建立了用一种前处理方法同时检测大黄鱼中多种有机氯、拟除虫菊酯和有机磷农药残留量的分析方法。试样经乙腈水提取,离心分层后用中性氧化铝填料和ENVI-18柱净化,然后用GC- μ ECD和GC-FPD测定,外标法定量。14种农药在0.01~0.5 mg/L范围内线性良好,相关系数 $r>0.999$,样品添加量为0.001~0.01 mg/kg时回收率为63%~110%,相对标准偏差不大于10.5%。 α -硫丹、 β -硫丹、硫丹硫酸盐的定量下限($S/N\geq 10$)为0.001 mg/kg,其余农药的定量下限均小于0.01 mg/kg。该方法准确、简便,可满足大黄鱼中多种农药残留的检测要求。

关键词:有机氯农药;拟除虫菊酯农药;有机磷农药;大黄鱼;气相色谱

中图分类号:D657.71 文献标识码:A 文章编号:1009-8143(2011)06-0006-05

Determination of Multi-residues in *Pseudosciaena crocea* by Gas Chromatography

Zhong Mao-sheng, Liang Jian, Jiang Xiao-fen, Zhu Pin-ling, Chen Shu-yi, Ye Hai-feng

(Ningde Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Ningde, Fujian 352100, China)

Abstract: A method for multi-residues detection of organochlorine, pyrethroid and organophosphorus pesticide residues in *Pseudosciaena crocea* with one pretreatment method was investigated in this study. Sample was extracted with acetonitrile-water, separated with liquid-liquid partition. It was cleaned up with neutral aluminum oxide packing and ENVI-18 column. And it was determined by GC- μ ECD and GC-FPD, using external standard. Calibration curves of 14 pesticides were linear between 0.01 mg/L and 0.5 mg/L, with correlation coefficients of more than 0.999. Recoveries of the pesticides were in the range of 63%~110% with relative standard deviations of no more than 10.5% in a spiked concentration range of 0.001~0.01 mg/kg. The quantification limits of the method ($S/N\geq 10$) for α -Endosulfan, β -Endosulfan and Endosulfan-Sulfate were 0.001 mg/kg, while those for the other pesticides were less than 0.01 mg/kg. The method was accurate and simple. The method can meet the requirement of the determination of various pesticide residues in *Pseudosciaena crocea*.

Keywords: Organochlorine pesticide; Pyrethroid pesticide; Organophosphorus Pesticide; *Pseudosciaena crocea*; Gas chromatography

近年来,水产品中的农药残留问题越来越受到人们的关注。农药在控制害虫,保证农、林、果蔬丰收方面起到了巨大的作用,但长期过量及不合理的使用导致大量农药从土壤迁移到养殖或捕捞水域中,这些农药若进入水体后会对地表水形成污染,水体中的农药可通过水体环境在水生生物体内富集,通过食物链传递进而对鱼类和人类造成极大危害。

然而由于鱼样与其他植物性食品相比成分比较复杂,基质中含有大量的蛋白质和脂肪,因此会对鱼

样中农药残留的提取、净化和检测带来很大困难。目前,农药多残留分析主要集中在植物性食品^[1],对动物性食品中的农药多残留分析文献报道相对比较少,所报道的几种方法^[2-3]均使用凝胶渗透色谱系统(GPC)进行处理,其仪器昂贵,耗时长,操作较繁琐,不利于实现批量检测。磺化法^[4]除油脂效果显著,但它仅适用于某一类农药残留的分析,通用性不强且对环境污染严重。

有机氯、拟除虫菊酯、有机磷类农药具有3种不同的性质与结构,检测这些农药往往需要不同的

收稿日期:2011-8-26

作者简介:钟茂生(1978-),男,工程师,从事食品检验研究。E-mail:sunboy610@sina.com

前处理方法^[5-7]。本文选取水产品中脂肪含量较高的大黄鱼作为样本,建立了用一种前处理方法同时对多种有机氯、拟除虫菊酯、有机磷类农药进行前处理的方法,从而提高多组分农药分析的速度,节省实验成本。

1 试验部分

1.1 仪器与试剂

Agilent-7890A 气相色谱仪(美国 Agilent 公司)配有电子捕获检测器(μ ECD)和火焰光度检测器(FPD);色谱柱 DB-17MS 毛细管柱,30m $\times$ 250 μ m $\times$ 0.25 μ m(美国 J&W 公司);离心机(上海安亭公司);旋涡混合器(德国 IKA 公司);恒温气浴振荡摇床(德国 IKA 公司);固相萃取装置(美国 SUPELCO 公司);氮吹浓缩仪(北京八方世纪科技有限公司);ENV I-18 固相萃取小柱(美国 SUPELCO 公司)。

标准溶液:由中国农业部环境保护科研监测所研制(浓度均为 100 μ g/mL);所用溶剂中除乙酸乙酯、正己烷为色谱纯外,其余为分析纯,其中中性氧化铝填料于使用前 400 $^{\circ}$ C 烘烤 2 h,降温后备用,无水硫酸钠于使用前需 650 $^{\circ}$ C 烘烤 4 h,降温后保存在干燥器内备用,水为三重过滤去离子水。

1.2 实验方法

1.2.1 提取方法。称取 10 g 试样置于 50 mL 离心管中,加入 4 mL 水,加入 4 g 氯化钠,接着加入 8 mL 乙腈溶液,旋涡混合 1 min,放在恒温气浴振荡摇床上振荡 15 min,4500 r/min 离心 5 min,上清液按 1.2.2 方法进行净化,残渣中再加入 5 mL 乙腈溶液提取一次,上清液也按 1.2.2 方法进行净化。

1.2.2 净化方法。在 ENV I-18 固相萃取柱上端依次填入约 5 mm 高的中性氧化铝填料,再填入约 5 mm 高的无水硫酸钠,用 4 mL 乙腈预淋洗柱子,弃去流出液,然后将上述 1.2.1 的上清液慢慢转移至柱中,收集全部流出液于 15 mL 离心管中,于 40 $^{\circ}$ C 下氮吹至近干,最后准确移取 1 mL 乙酸乙酯-正己烷(体积比 1:1,色谱纯)定容洗脱,过膜,装入进样瓶,分别供 GC- μ ECD 和 GC-FPD 分析。

1.2.3 仪器参数与测定条件

1.2.3.1 有机磷类农药(以下简称第 组),用

GC-FPD 来测定。色谱柱 DB-17MS 石英毛细管柱,30 m $\times$ 250 μ m $\times$ 0.25 μ m,柱升温程序:100 $^{\circ}$ C 保持 1 min,以 10 $^{\circ}$ C/min 升至 120 $^{\circ}$ C,再以 15 $^{\circ}$ C/min 升至 190 $^{\circ}$ C,然后以 6 $^{\circ}$ C/min 升至 230 $^{\circ}$ C,最后以 30 $^{\circ}$ C/min 升至 290 $^{\circ}$ C 保持 7 min,进样口温度 240 $^{\circ}$ C;检测器(FPD)温度 240 $^{\circ}$ C;氢气 75 mL/min;空气:100 mL/min;载气:氮气,纯度大于等于 99.99%,流量 50 mL/min;进样量 2 μ L。在上述色谱条件下农药标准品、大黄鱼样品以及样品添加混合标准溶液的色谱见图 1。

1.2.3.2 有机氯和拟除虫菊酯农药(以下简称第 组),用 GC- μ ECD 来测定。色谱柱 DB-17MS 石英毛细管柱,30 m $\times$ 250 μ m $\times$ 0.25 μ m;柱升温程序:80 $^{\circ}$ C 保持 1 min,以 20 $^{\circ}$ C/min 升至 240 $^{\circ}$ C 保持 3 min,再以 10 $^{\circ}$ C/min 升至 260 $^{\circ}$ C 保持 4 min,最后以 10 $^{\circ}$ C/min 升至 290 $^{\circ}$ C 保持 9 min;进样口温度:240 $^{\circ}$ C;检测器(μ ECD)温度 310 $^{\circ}$ C;载气:氮气,纯度大于等于 99.99%,流量 50 mL/min;进样量 2 μ L。在上述色谱条件下农药标准品、大黄鱼样品以及样品添加混合标准溶液的色谱见图 2。

2 结果与分析

2.1 样品前处理条件的选择

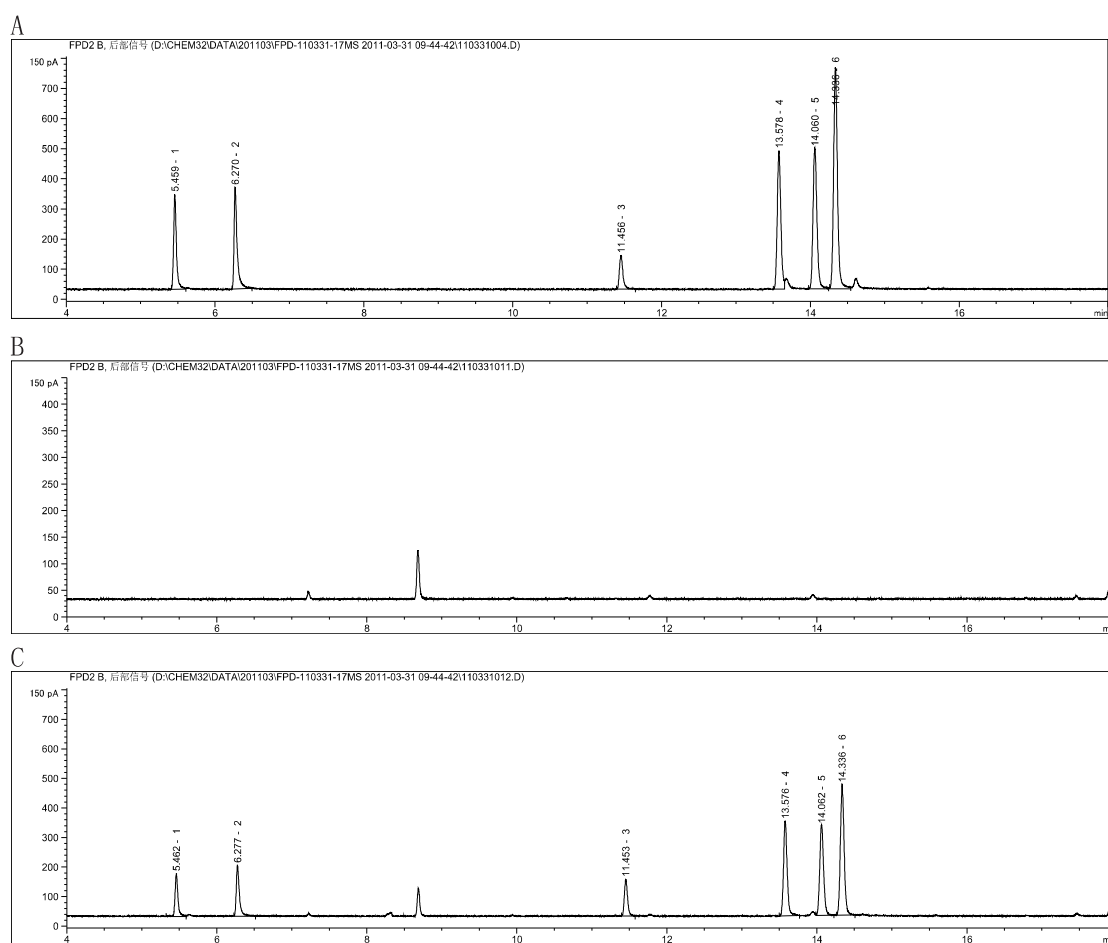
2.1.1 提取。对于动物源性食品中的农药残留,一般认为用脂溶性溶剂将油脂一起提取出来,提取效率比较高,但该方法会同时带出大量杂质,给净化带来困难。乙腈作为一种通用的提取溶剂在药物残留检测方面得到了广泛的运用^[8],乙腈对大多数农药均有较好的溶解度且脂肪在乙腈中的溶解度较小,而且乙腈与净化时的固相萃取柱相相匹配,无需浓缩可直接过柱,因此本研究考虑使用乙腈作为提取溶剂。但由于单纯使用乙腈提取时,鱼肉会凝结在一起不利于有机溶剂在水产品组织中的渗透提取。实验发现加入 4 mL 水,可以增加乙腈对肌肉的渗透性,鱼肉组织得到完全分散,有利于提高提取效率,而同时加入氯化钠使蛋白质与氯化钠相互作用,从而肌肉组织呈稀泥状,整个提取体系状态非常均一,利用氯化钠的盐析作用,高速离心使水相和有机相分离,以除去水和水溶性杂质,同时还可减少提取液中的干扰基质含量并提高待测物在

乙腈相中的分配比。离心后的溶液偶有乳化现象,可振摇几下再离心,即可消除乳化。

2.1.2 净化。Envi-18 柱的硅胶上接有十八烷基,有较高的相覆盖率和碳含量,对非极性物质有较高的容量^[9],Envi-18 柱配合乙腈作为正相柱使用,同时结合中性氧化铝一起作用,对油脂的去除有十分显著的效果,同时还可以除去大部分弱极性的杂质。在柱上装入无水硫酸钠,预先除去提取液中残余的极少量水分。提取液过柱后呈无色透明,净化效果良好,且对多种有机氯、拟除虫菊酯、有机磷三种不同类型的农药均有满意的回收率。而且本方法的提取液不必浓缩,可直接过柱,操作简便。

2.2 方法的线性范围、定量下限、回收率和精密度

根据 14 种农药在气相色谱中的响应值和各进出口限量要求,确定各种农药在混合标准储备液中的浓度,其中 α -硫丹、 β -硫丹、硫丹硫酸盐 $0.005 \mu\text{g/mL}$,其余 11 种农药均为 $0.05 \mu\text{g/mL}$ 。再由混合标准储备液稀释成 5 个不同浓度的混合标样,用气相色谱进行分析,以峰面积对质量浓度做线性回归分析,线性方程和相关系数见表 1 和表 2。用本方法对大黄鱼添加水平为 $0.001\sim 0.01 \text{ mg/kg}$ 的标准品进行平行 6 次实验,其中 α -硫丹、 β -硫丹、硫丹硫酸盐的定量下限($S/N \geq 10$)为 0.001 mg/kg ,其余各项目的定量下限均小于 0.01 mg/kg 。方法平均回收率为 $63\% \sim 110\%$,相对标准偏差为 $4.1\% \sim 10.5\%$,结果较为理想。

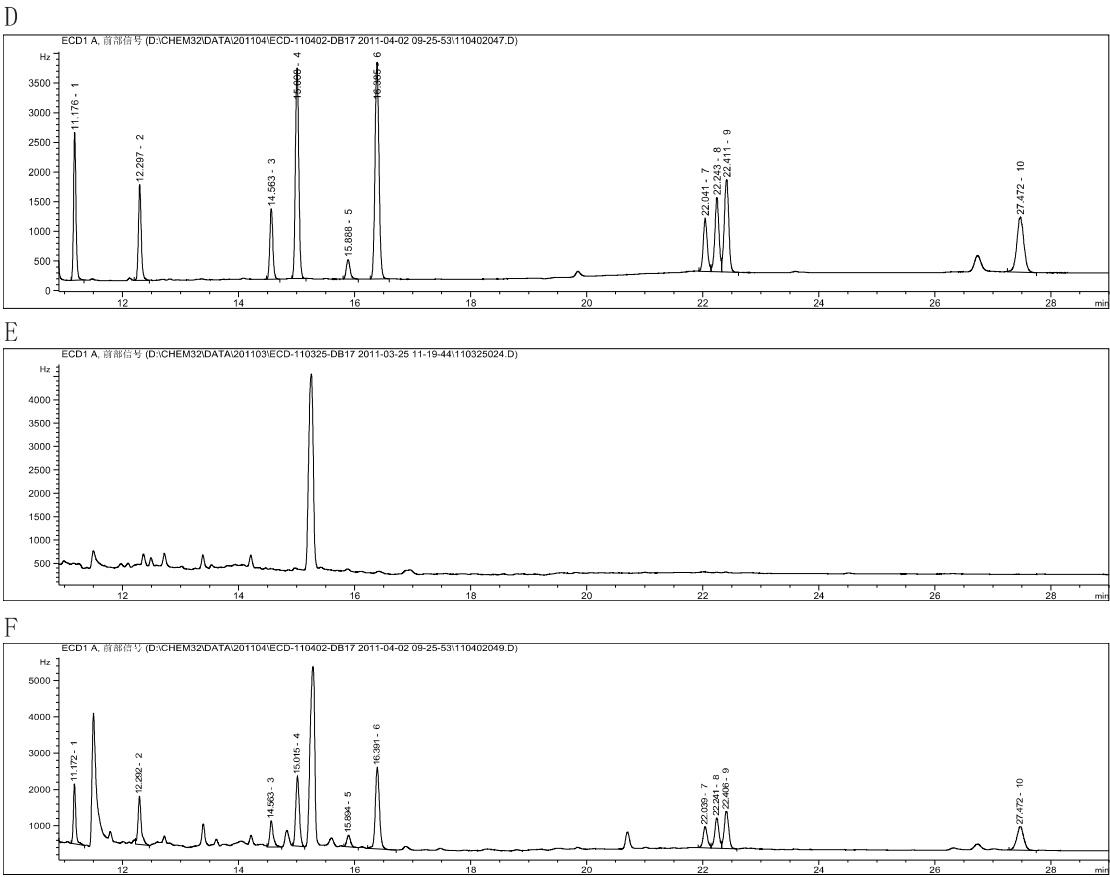


注 1.敌敌畏 2.甲胺磷 3.久效磷 4.甲基对硫磷 5.马拉硫磷 6.对硫磷。

Note 1. D.ichlorvos 2. Methamidophos 3. Monocrotophos 4. Parathion-methyl 5. Malathion 6. Parathion.

图1 第I组农药混合标准溶液色谱图(A)、大黄鱼色谱图(B)和添加混合标准溶液后的大黄鱼样品色谱图(C)

Fig. 1 Chromatograms of pesticides standard solution (A), *Pseudosciaena crocea* sample (B) and *Pseudosciaena crocea* sample spiked with pesticides standard solution (C) for Group I



注 1.三氯杀螨醇 2.α - 硫丹 3.β - 硫丹 4.联苯菊酯 5.硫丹硫酸盐 6.甲氰菊酯 7.氯氰菊酯 8.氯氰菊酯 9.氯氰菊酯 10.溴氰菊酯。
Note 1 D.icosab 2.α -Endosulfan 3.β -Endosulfan 4.Bifenthrin 5.Endosulfan-Sulfate 6.Fenpropathrin 7.Cypermethrin 8.Cypermethrin 9.Cypermethrin 10.Deltamethrin.

图2 第 组农药混合标准溶液色谱图(D) ,大黄鱼色谱图(E)和添加混合标准溶液后的大黄鱼样品色谱图(F)

Fig.2 Chromatograms of pesticides standard solution (D) ,Pseudosciaena crocea sample(E) and Pseudosciaena crocea sample spiked with pesticides standard solution (F) for Group

表1 6种有机磷农药保留时间、线性方程、相关系数、回收率、精密度

Table 1 Retention time,regression equation ,correlation coefficient (R) , recovery and relative standard deviations (RSD) of 6 organophosphorus

No.	Pesticides	tR /min	Regression equation	R	Recovery/%	RSD %
1	Dichlorvos(敌敌畏)	5.459	Y=92560.02X - 47.46	0.9990	63	10.5
2	Methamidophos(甲胺磷)	6.273	Y=123147.65X - 137.60	0.9991	65	9.4
3	Monocrotophos(久效磷)	11.458	Y=45505.77X - 47.30	0.9990	85	8.2
4	Parathion-methyl(甲基对硫磷)	13.578	Y=172445.96X - 90.85	0.9993	89	7.2
5	Malathion(马拉硫磷)	14.060	Y=182188.24X - 45.92	0.9994	83	4.1
6	Parathion(对硫磷)	14.336	Y=285500.18X - 90.06	0.9991	80	8.0

表2 4种有机氯和4种拟除虫菊酯农药保留时间、线性方程、相关系数、回收率、精密度

Table 2 Retention time, regression equation, correlation coefficient (R), recovery and relative standard deviations (RSD) of 4 organochlorines and 4 pyrethroids

No.	Pesticides	Retention time	Regression equation	R	Recovery/%	RSD/%
1	Dicofol (三氯杀螨醇)	11.174	$Y=508155.92X-370.99$	0.9994	71	5.6
2	α -Endosulfan (α -硫丹)	12.290	$Y=333019.04X-307.31$	0.9994	102	8.8
3	β -Endosulfan (β -硫丹)	14.563	$Y=220865.47X-197.96$	0.9996	110	7.5
4	Bifenthrin (联苯菊酯)	14.993	$Y=599373.27X-653.40$	0.9998	98	6.8
5	Endosulfan-Sulfate (硫丹硫酸盐)	15.882	$Y=68502.30X-68.33$	0.9990	85	5.4
6	Fenpropathrin (甲氰菊酯)	16.383	$Y=684226.77X-581.83$	0.9995	80	7.1
	Cypermethrin (氯氰菊酯)	22.042				
7	Cypermethrin (氯氰菊酯)	22.245	$Y=448830.00X-530.55$	0.9990	87	5.4
	Cypermethrin (氯氰菊酯)	22.410				
8	Deltamethrin (溴氰菊酯)	27.462	$Y=167267.05X-54.23$	0.9993	84	6.0

3 结论

本文以脂肪含量较高的大黄鱼为研究对象,建立了用一种前处理方法同时检测大黄鱼中多种有机氯、拟除虫菊酯和有机磷类农药残留量的分析方法。该方法的步骤简单、试剂用量少、效果良好,方法回收率及精密度均符合残留分析要求,适合于监控大黄鱼中的多种农药残留。通过喂养的方式给药,分析农药在鱼体内代谢和残留情况,这有待于今后进一步实验研究。

参考文献

- [1] 刘婷婷,王素方,张守杰,等. 茶叶中6种农药多残留气相色谱测定方法[J]. 食品科技, 2009, 34(3): 271-274.
- [2] 吴刚,赵珊红,俞春燕,等. 加速溶剂萃取-GPC气相色谱(μ -ECD)快速分析动物源性食品中多种电负性农药残留量[J]. 中国食品学报, 2009, 9(2): 162-170.

- [3] 王耀,刘少彬,谢翠美,等. 加速溶剂萃取凝胶渗透色谱/固相萃取净化气相色谱质谱法测定咸鱼中有机磷农药残留[J]. 分析化学, 2011, 39(1): 67-71.
- [4] 肖义夫,甘源,赵舰,等. 气相色谱法同时测定食品中六六六、滴滴涕和三氯杀螨醇残留量[J]. 现代预防医学, 2006, 33(9): 1630-1631, 1635.
- [5] 张金虎,郑向东,林荆,等. 固相萃取-气相色谱法同时测定进出口水产品及其制品中多种有机磷农药残留量的分析[J]. 农药, 2009, 48(6): 437-438, 441.
- [6] 韩丽,郭德华,邓晓军,等. 气相色谱-负离子化学电离质谱法测定水产品中残留的硫丹及其代谢物[J]. 色谱, 2007, 25(6): 902-906.
- [7] GB/T 5009.162-2009. 动物性食品中有机氯和拟除虫菊酯农药多组分残留的测定[S]. 北京: 中国标准出版社, 2008.
- [8] GB/T 19648-2006. 水果和蔬菜中500种农药及相关化学品残留量的测定气相色谱-质谱法[S]. 北京: 中国标准出版社, 2007.
- [9] 苏建峰,钟茂生,张光军,等. 固相萃取-气相色谱-质谱联用测定葱属蔬菜中二甲噻菌胺和吡氟禾草灵残留量[J]. 应用化学, 2010, 27(5): 590-593.