

番茄、辣椒、茄子中甲基毒死蜱残留量测定

张 征, 武中平

(江苏省产品质量监督检验研究院, 江苏 南京 210007)

摘 要: 采用高效液相色谱-二极管阵列检测器对番茄、辣椒和茄子中甲基毒死蜱残留量进行测定。样品用乙腈提取后, 经 Carb/NH₂ 固相萃取小柱净化, 用 C₈ 液相色谱柱、二极管阵列检测器, 对甲基毒死蜱残留量的测定可取得满意的结果。该方法样品平均加标回收率为 80.7%~92.4%, 相对标准偏差为 1.1%~4.6%; 蔬菜中甲基毒死蜱检出下限为 0.02mg/kg。

关键词: 茄果类蔬菜; 甲基毒死蜱; 残留量; 高效液相色谱; 固相萃取

Determination of Chlorpyrifos-methyl Residues in Tomato, Hot Pepper and Eggplant

ZHANG Zheng, WU Zhong-ping

(Jiangsu Product Quality Supervision and Inspection Institute, Nanjing 210007, China)

Abstract: A high performance liquid chromatography method was presented for the determination of chlorpyrifos-methyl residues in tomato, hot pepper and egg plant. The chlorpyrifos-methyl residues in the samples were extracted into acetonitrile, cleaned up using a Carb/NH₂ solid phase extraction column, separated on a C₈ liquid chromatography column, and detected with a diode array detector (DAD). The average spike recoveries of the method across three spike levels were between 80.7% and 92.4% ($n = 6$), with a relative standard deviation between 1.1% and 4.6%. The detection limit of the method were 0.02 mg/kg.

Key words: solanaceous vegetables; chlorpyrifos-methyl; residue; high performance liquid chromatography; solid phase extraction

中图分类号: O657.72

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2011)22-0257-03

甲基毒死蜱(chlorpyrifos-methyl)是一种广谱有机磷杀虫剂, 具有触杀、胃毒和熏蒸作用, 无内吸性, 在土壤中无持效性, 作为粮食储藏保护剂, 可用于代替马拉硫磷防治贮藏谷物中的害虫, 同时也可防治各种叶类作物上的害虫及蚊成虫、蝇类、水生幼虫和卫生害虫, 应用广泛。

甲基毒死蜱的主要作用机制是通过抑制乙酰胆碱酯酶(acetylcholinesterase, AChE)活性使得突触和神经肌肉接头处的乙酰胆碱累积导致神经信号传导阻滞而引起中毒反应^[1-2], 对人有一定的毒性。因此有些国家已经制定了甲基毒死蜱的最大残留限量, 如大白菜(日本、中国)≤0.1mg/kg, 番茄(日本)≤0.5mg/kg, 结球甘蓝(中国)≤0.1mg/kg, 韭菜和其他叶菜类蔬菜(中国)≤0.5mg/kg, 米(欧盟)≤0.01mg/kg, 蔬菜、甜菜(欧盟)≤0.03mg/kg。另外, 欧盟准备将茄子上甲基毒死蜱的允许残留量从原来的 0.5mg/kg 提升至 1.0mg/kg^[3]。

关于甲基毒死蜱的残留分析已有一些报道^[4-11]。范志

先等^[4]用气相色谱-火焰光度检测器(gas chromatography-flame photometric detector, GC-FPD)对甘蓝及土壤上的甲基毒死蜱残留动态进行了研究, 刘辉等^[5]采用超高效液相色谱串联质谱测定了水果、蔬菜中包括甲基毒死蜱在内的 11 种有机磷农药残留。张超等^[6]采用液相色谱对水、土壤和蔬菜中毒死蜱、甲基毒死蜱残留检测前处理方法进行了研究。孙大利等^[7]采用气相色谱-电子捕获检测器(GC-electron capture detector, GC-ECD)测定了水果中包括甲基毒死蜱的 9 种农药残留。但番茄、辣椒、茄子等茄果类蔬菜中甲基毒死蜱残留量的测定还鲜有报道。本实验优化前处理和色谱条件, 测定茄果类蔬菜中甲基毒死蜱的含量, 以期为其测定方法的建立提供一定的参考依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

番茄、辣椒、茄子购于超市。

收稿日期: 2011-10-07

基金项目: 江苏省地方标准制定项目(苏质技监标发[2006]171 号文)

作者简介: 张征(1972—), 男, 高级工程师, 硕士, 主要从事食品及相关产品管理研究。E-mail: zz_spjkzx@jsqts.gov.cn

乙腈(色谱纯);甲醇(色谱纯);甲苯(分析纯),使用前进行重蒸;氯化钠(优级纯);无水硫酸钠(分析纯),用前在650℃灼烧4h,贮于干燥器中,冷却后备用;甲基毒死蜱标准物质(纯度≥99%)。

1.2 仪器与设备

1200 高效液相色谱仪(配有二极管阵列检测器、化学工作站) 美国 Agilent 公司;氮吹仪 美国 Organomation Associates 公司;Carb/NH₂ 固相萃取柱[500mg/500mg, 6mL, 使用前需用5mL 乙腈-甲苯(3:1, V/V)活化] 无锡科奥美萃生物科技有限公司;微孔过滤膜(13mm×0.45μm);分析天平(感量为0.0001g和0.01g);超声波清洗器;固相萃取装置;粉碎机;旋涡混合器。

1.3 方法

1.3.1 溶液的配制

甲基毒死蜱标准溶液:称取甲基毒死蜱标准物质约0.025g(精确至0.0002g)于25mL容量瓶中,加甲醇超声振荡溶解,并定容至刻度,摇匀,配制成单一标准溶液。

甲基毒死蜱标准工作溶液:根据需要,准确移取适当体积的标准溶液于25mL容量瓶中,加甲醇超声振荡,并定容至刻度,摇匀,配制成一系列甲基毒死蜱标准工作溶液。

洗脱液:乙腈-甲苯(3:1, V/V)。

1.3.2 提取与净化

取代表性样品500g,取可食部分(不可水洗)并将其切成小块,用组织捣碎机匀浆并混合均匀。

称取25g匀浆液(精确至0.01g)于锥形瓶I中,加入50mL乙腈,超声提取20min,过滤,将滤液转移到具塞量筒中,加入5g氯化钠,剧烈振荡3min,静置30min。准确移取10.0mL上层清液,使之通过装有2cm厚的无水硫酸钠层的滤纸进入试管中,用5mL乙腈洗涤无水硫酸钠层,收集、合并乙腈,于65℃水浴中氮气吹干,用2mL洗脱液溶解残渣,待净化。

将待净化液转移至已预先活化的Carb/NH₂固相萃取柱中,调节装置控制流速在2mL/min左右,收集流出液于锥形瓶II,用4×5mL洗脱液洗涤试管,将其加入柱中,收集流出液于锥形瓶II,于70℃水浴中用氮气吹干。用1.0mL乙腈溶解残渣,旋涡混合器混合1min,有机滤膜过滤,待测。

1.3.3 高效液相色谱分析条件

液相色谱柱:Supelco LC-C₈柱(250mm×4.6mm, 5μm);流动相:甲醇-水(80:20, V/V);柱温:30℃;流速:0.6mL/min;检测波长:290nm;进样量:10μL。

2 结果与分析

2.1 样品前处理

对于蔬菜、水果样品中甲基毒死蜱残留的测定,不同的研究者采用了不同的净化手段。范志先等^[4]采用液液萃取和氧化铝固相萃取柱对土壤和甘蓝样品进行了净化,刘辉等^[5]采用基质分散技术(PSA+活性碳粉+无水硫酸镁)对水果、蔬菜样品进行净化,采用超高效液相色谱串联质谱进行检测。张超等^[6]采用C₁₈固相萃取小柱对土壤、蔬菜、水样品进行净化。孙大利等^[7]采用基质分散技术(PSA+C₁₈+无水硫酸镁)对水果样品进行了净化。而茄子、番茄和辣椒等茄果类蔬菜中色素的种类较多、色素含量较高,以上净化手段很难完全去除色素及其他物质的干扰。有文献表明^[12-15],Carb/NH₂固相萃取小柱能有效去除蔬菜、水果样品特别是颜色比较深的蔬菜样品中的色素、有机酸和酚类。因此在本项目中,采用Carb/NH₂固相萃取小柱对茄子、番茄和辣椒样品进行净化。

在Carb/NH₂固相萃取小柱中加入相同质量的甲基毒死蜱标准物质后,用不同体积的洗脱液进行洗脱,收集洗脱液并浓缩到相同体积后测定甲基毒死蜱的质量,得到洗脱回收率。结果表明,在用20mL淋洗液进行洗脱时,噻虫啉的回收率达到最大,之后洗脱液体积的增加并不能提高甲基毒死蜱的回收率,故在本项目将洗脱液体积定为20mL。

2.2 色谱条件的优化

2.2.1 流动相的选择

为了获得较好的分离效果,本实验对不同体积分数的甲醇溶液进行考察,结果表明用甲醇-水(90:10, V/V)时,甲基毒死蜱的保留时间为6.27min,将甲醇体积分数降为85%时,甲基毒死蜱的保留时间为7.66min,当甲醇体积分数为80%时,其保留时间为10.00min。考虑到样品中存在一些干扰物质,因此应该将甲基毒死蜱的出峰时间尽可能地后移,同时又考虑到总的分析时间和检验成本,保留时间不宜太长。综合考虑,选用甲醇-水(80:20, V/V)作为液相色谱分析的流动相条件。此条件下,甲基毒死蜱的峰形对称,也有利于和基质中相关物质的分离。

2.2.2 检测波长的选择

用DAD对甲基毒死蜱标准溶液进行全扫描。发现甲基毒死蜱的最大吸收波长在205nm处,230nm为其第二大吸收,290nm为其第三大吸收波长。考虑到DAD紫外检测时的实际应用波长范围和仪器基线的平稳性,选用290nm作为项目分析的检测波长。用该波

长对样品提取液进行检测,发现在仪器基线平稳,有利于残留分析。

在优化色谱分析条件下,甲基毒死蜱的保留时间为 10.1min,甲基毒死蜱标准溶液高效液相色谱图见图 1。

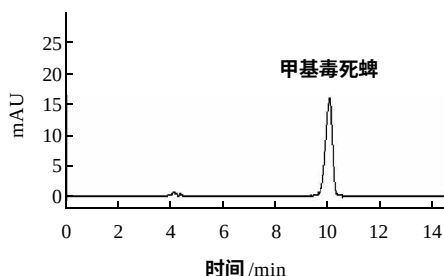


图 1 甲基毒死蜱标准溶液高效液相色谱图
Fig.1 HPLC chromatogram of chlorpyrifos-methyl standard

2.3 线性范围与方法检出限

分别吸取一定体积的甲基毒死蜱标准溶液,配制质量浓度为 0.16、0.80、8.00、20.00、100.00mg/L 甲基毒死蜱标准工作溶液。以质量浓度(x)-峰面积(y)求出线性方程: $y = 34.8420129x + 6.9774231$,相关系数为 0.99998。

本方法检测下限是采用空白加标方式进行实测,并对甲基毒死蜱在茄子、番茄、辣椒中的检测下限进行测定,按 3 倍噪声水平,得到检测下限为 0.02mg/kg。空白茄子甲基毒死蜱加标高效液相色谱图见图 2。

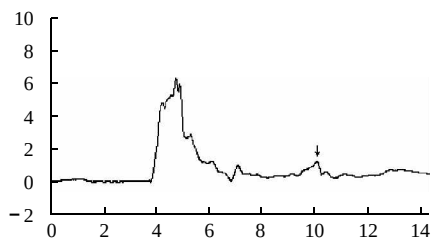


图 2 空白茄子加标高效液相色谱图
Fig.2 HPLC chromatogram of spiked egg plant sample

2.4 方法的精密度与回收率

在空白茄子、番茄、辣椒(25g 样品)中进行甲基毒死蜱的添加回收率实验,共设 3 个添加水平,分别是 0.02、0.10、1.00mg/kg,同一添加水平在同一样品上重复 6 次,计算回收率和变异系数,结果见表 1。平均添加回收率在 80.7%~92.4% 之间,相对标准偏差在 1.1%~4.6% 之间。

表 1 甲基毒死蜱在茄子、番茄、辣椒中的平均添加回收率
Table 1 Spike recoveries and relative standard deviation of chlorpyrifos-methyl in tomato, hot pepper and egg plant

蔬菜	加入量 / (mg/kg)	测得值 / (mg/kg)	平均添加 回收率 /%	相对标准 偏差 /%
茄子	0.02	0.01674	83.7	2.8
	0.10	0.085	85.0	3.9
	1.00	0.900	90.0	1.1
番茄	0.02	0.01614	80.7	1.8
	0.10	0.0822	82.2	3.3
	1.00	0.844	84.4	3.0
辣椒	0.02	0.01776	88.8	4.6
	0.10	0.0921	92.1	3.2
	1.00	0.924	92.4	2.1

3 结 论

本实验建立的茄子、番茄、辣椒等茄果类蔬菜中甲基毒死蜱残留量的高效液相色谱-二极管阵列测定法,前处理简单,操作方便,精密度和准确度较好,检出限较低,能满足蔬菜中甲基毒死蜱的限量要求,符合实验室对农药残留测定方法的要求。可用于茄果类蔬菜中甲基毒死蜱残留量的测定,并具有一定的推广价值。

参 考 文 献 :

- [1] 朱砂, 邹俊, 罗运达, 等. 甲基毒死蜱对红细胞膜乙酰胆碱酯酶的抑制作用及其与膜脂相互关系[J]. 中国生物化学与分子生物学报, 1993, 9(5): 569-573.
- [2] 李龙, 宋瑞琨. 甲基毒死蜱的代谢转化机制研究[J]. 中国公共卫生, 2003(10): 1185-1186.
- [3] EC. No 396/2005 European parliament and of the council to establish Annex I listing the food and feed products to which maximum levels for pesticide residues apply[S/OL]. <http://bbs.instrument.com.cn/shtml/20110615/3364411/>.
- [4] 范志先, 朱杰丽, 许允成, 等. 甲基毒死蜱在甘蓝及土壤上的残留动态研究[J]. 农业环境科学学报, 2003, 22(2): 235-237.
- [5] 刘辉, 汪霞, 何艺梅, 等. 水果、蔬菜中 11 种有机磷农药残留的快速测定[J]. 中国卫生检验杂志, 2009(10): 2314-2316.
- [6] 张超, 杨红. 水、土壤和蔬菜中毒死蜱、甲基毒死蜱残留检测前处理方法[J]. 农药, 2009(5): 367-370.
- [7] 孙大利, 胡琼波, 杨峰, 等. 分散固相萃取-气相色谱法测定水果中 9 种农药残留[J]. 华南农业大学学报, 2011(2): 44-47.
- [8] 侯志广, 王秀梅, 范志先, 等. 甲基毒死蜱在甘蓝及土壤上的残留动态研究[J]. 吉林农业大学学报, 2005(6): 68-71.
- [9] 张霞, 曹艳平, 季萍, 等. 水中毒死蜱和甲基毒死蜱的 GC-ECD 测定方法[J]. 中国卫生检验杂志, 2010(7): 1656-1657.
- [10] 张敬平, 刘文卫, 周闰, 等. 气相色谱法同时检测生活饮用水中 27 种有机磷农药残留[J]. 中国卫生检验杂志, 2010(3): 527-528.
- [11] 朱志丽, 范志先, 沈翠丽, 等. 气质联用法测定甲基毒死蜱的水解速率[J]. 青岛科技大学学报: 自然科学版, 2008(3): 210-212.
- [12] 陈红平, 刘新, 汪庆华, 等. 气相色谱-串联质谱法测定茶叶中 88 种农药残留量[J]. 色谱, 2011, 29(5): 409-416.
- [13] 高巍, 卢剑, 武中平, 等. 气相色谱双柱法测定果汁中多种有机磷农药残留量[J]. 食品科学, 2010, 31(4): 190-193.
- [14] 王玉健, 黄惠玲, 江林娟, 等. 固相萃取-气相色谱法检测 4 种植物源食品中莠灭净的残留量[J]. 食品科学, 2010, 31(14): 182-185.
- [15] 吴林, 吴晓波, 张承聪, 等. 固相萃取-气相色谱法同时检测茶叶中多种农药和多氯联苯残留[J]. 食品科学, 2011, 32(14): 223-226.