

毒性与残留

RP-HPLC 同时测定蔬菜中甲基对硫磷和对硫磷的残留量

王绍云^{1,2}, 周光明², 王莉², 李蓉^{2,3}

(1. 凯里学院 应用化学研究所, 贵州 凯里 556000; 2. 西南大学 化学化工学院, 重庆 400715;
3. 贵阳医学院 化学教研室, 贵阳 550004)

摘要: 建立了同时测定甲基对硫磷、对硫磷在蔬菜中残留量的反相高效液相色谱分析方法。用 Hypersil C18 柱 (4.6mm × 300mm, 5μm) 色谱柱, 以甲醇-水 (60:40, v/v) 为流动相, 流速 1.0ml/min, 270nm 检测。甲基对硫磷、对硫磷分别在 0.04~10.00、0.002~10.00 μg/ml 范围内呈良好的线性关系, 检出限分别为 0.036、0.00043 μg/ml, 两种农药 (添加浓度 0.05、0.5、2 μg/g) 的回收率为 91.8%~94.8%, 相对标准偏差为 1.06%~2.41%。

关键词: RP-HPLC; 甲基对硫磷; 对硫磷; 农药残留; 蔬菜

中图分类号: TQ450.2 文献标识码: A 文章编号: 1006-0413(2006)09-0622-02

Simultaneous detection by RP-HPLC of methyl-parathion and parathion residue levels in vegetables

WANG Shao-yun^{1,2}, ZHOU Guang-ming², WANG Li², LI Rong^{2,3}

(1. Institute of Applied Chemistry, Kaili College, Kaili 556000, Guizhou, China; 2. School of Chemistry and Chemical Engineering, Southwest University, Chongqing 400715, China; 3. Department of Chemistry, Guiyang Medical College, Guiyang 550004, China)

Abstract: A method was developed for simultaneous determination of methyl-parathion and parathion residues in vegetables by reversed-phase high performance liquid chromatography. A Hypersil C18 column (4.6 × 300 mm, 5μm) with CH₃OH:H₂O (60:40, by vol) as the mobile phase, a flow rate of 1.0 ml/min, and an ultraviolet detection wavelength of 270 nm. Methyl-parathion and parathion showed linear responses in the concentration ranges of 0.04 to 10.00 and 0.002 to 10.00 μg/ml, respectively, and detection limits of 0.036 and 0.00043 μg/ml, respectively. Recoveries of the two pesticides (total additive concentrations of 0.05, 0.5, and 2 μg/g) were 91.8 to 94.8% with relative standard deviations (RSD) from 1.06 to 2.41%.

Key words: PR-HPLC; methyl-parathion; parathion; pesticide residues; vegetables

甲基对硫磷和对硫磷都是毒性较强的有机磷农药, 具有触杀和胃毒作用, 对蔬菜、水稻等的害虫有很好的防治效果, 如不正确使用^[1], 会严重威胁人们的身体健康, 目前, 甲基对硫磷和对硫磷等有机磷农药的测定大多采用气相色谱法^[2-3]、化学发光法^[4]、液相色谱-质谱联用法^[5]、毛细管胶束电动色谱法^[6]等, 文献^[2-5]方法操作繁琐, 实验条件要求高, 文献^[6]检测限高。而采用高效液相色谱法同时测定甲基对硫磷和对硫磷的方法, 目前未见报道。本文探讨采用反相高效液相色谱法同时测定甲基对硫磷和对硫磷的残留量。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

LC-6A 高效液相色谱仪、岛津 SPD-6AV 紫外检测器 (Shimadzu, 日本), U2001 型紫外分光光度计 (Hitachi, 日本), KQ-50 型超声波清洗器 (昆山市超声仪器有限公司), AB204-N 型电子天平 (上海梅特勒-托利多仪器有限公司), SENCOR-201 旋转蒸发器 (上海申顺生物科技有限公司)。甲基对硫磷和对硫磷标准品: 纯度 99% (Sigma 公司); 甲醇、

二氯甲烷、无水硫酸钠, 均为分析纯, 水为二次蒸馏水, 所有溶液使用前均由 0.45 μm 孔径的滤膜过滤。甲基对硫磷和对硫磷标准储备液 100 μg/ml 甲醇溶液。

1.2 实验条件

1.2.1 色谱条件

色谱柱: Hypersil C18 柱 (4.6mm × 300mm, 5μm, 大连依利特分析仪器有限公司); 流动相为甲醇-水 = 60:40 (v/v); 流速: 1.0ml/min; 检测器: SPD-6AV 紫外检测器; 检测波长: 270nm; 柱温: 室温; 进样量: 20 μl。

1.2.2 样品的提取与净化

将蔬菜切碎混匀后, 称取 10.00g 样品置于 250ml 具塞锥形瓶中, 加入 30ml 二氯甲烷, 超声提取 30min 后过滤于分液漏斗中, 用 20ml 二氯甲烷分 3 次洗涤锥形瓶及漏斗, 静置, 待溶液清晰分层, 收集有机相, 水相用 30ml 二氯甲烷分两次萃取, 合并有机相, 加适量无水硫酸钠, 至溶液透明 (表示水分已除掉), 抽滤, 用约 20ml 二氯甲烷分数次洗涤容器和无水硫酸钠, 将滤液在小于 40℃ 水浴旋转蒸发器浓缩至干, 用甲醇超

收稿日期: 2005-12-26, 修返日期: 2006-03-08

基金项目: 重庆市自然科学基金资助 (CSTC-2004BB7087)

作者简介: 王绍云 (1966-), 女, 贵州凯里人, 副教授, 从事无机及分析化学教学与研究。

通讯作者: 周光明, 男, 教授。电话: 023-68330718, E-mail: gmzhou@swnu.edu.cn。

声溶解移入2ml刻度容量瓶中,用甲醇定容,用0.45 μ m滤膜过滤,待HPLC分析。

2 结果与讨论

2.1 提取溶剂的选择

甲基对硫磷、对硫磷微溶于水,易溶于有机溶剂,对二氯甲烷、三氯甲烷、丙酮等不同溶剂进行萃取率比较,实验表明以二氯甲烷萃取率最高,而与水不相溶,沸点低(39 $^{\circ}$ C)便于浓缩,故选择二氯甲烷为提取溶剂。

2.2 检测波长的选择

以甲醇作空白,将甲基对硫磷和对硫磷储备液分别于紫外分光光度计中进行扫描,结果表明,甲基对硫磷在220~370nm,对硫磷在230~370nm范围内有紫外吸

收,其最大吸收波长分别为272、280nm。通过实验在270nm处分离效果最好,读数精密度高、稳定性好,故选择270nm为检测波长。

2.3 流动相的选择

在Hypersil C18色谱柱上比较甲醇-水体系作流动相,按不同比例进行恒流洗脱的研究,组分比例对灵敏度和分离度均有一定的影响。发现甲醇:水=60:40(v/v)时,柱效最高,甲基对硫磷、对硫磷在12min内达到基线分离,且灵敏度高,杂质峰与甲基对硫磷、对硫磷峰分开效果最好。所以,流动相为甲醇:水=60:40;流速:1.0ml/min;检测波长:270nm;柱温:室温;进样量:20 μ l。在此色谱条件下,甲基对硫磷、对硫磷的平均保留时间分别为5.66、10.91min,见图1。

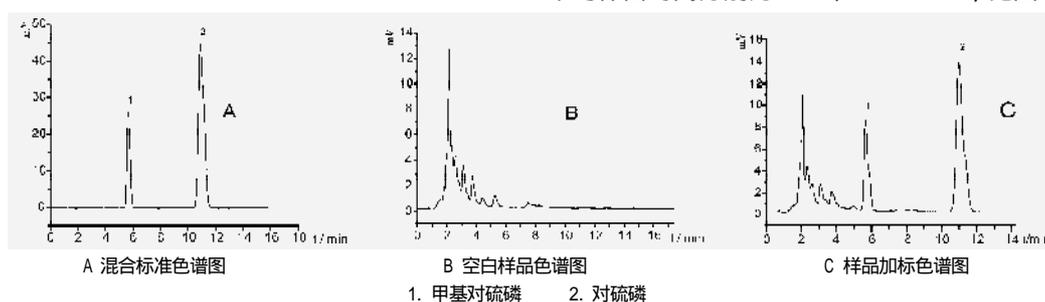


图1 甲基对硫磷、对硫磷色谱图

2.4 标准曲线及检出限

取一定量的甲基对硫磷、对硫磷标准储备液进行混合,用流动相稀释至所需浓度后进行测试,各取20ml进样分析,外标法以峰面积 y 对质量浓度 x (μ g/ml)作图,绘制标准曲线。在上述色谱条件下,经测试甲基对硫磷、对硫磷的质量浓度分别在0.04~10.00、0.002~10.00 μ g/ml范围内呈线性关系,回归方程分别为 $y=8744.9x + 1173.7$ ($r=0.9996$)、 $y=25527x+7382.9$ ($r=0.9983$) 检出限分别为0.036、0.00043 μ g/ml($S/N=3$)。

2.5 方法的回收率和精密度

用本法在未受农药污染的蔬菜样品上添加已知浓度,对两种农药按添加水平0.05、0.5、2 μ g/g三个浓度水平进行加标回收实验,测得两种农药回收率范围为91.8%~94.8%;精密度实验为每个添加浓度重复5次测定,测得方法的RSD为1.06%~2.41%,其准确度和精密度均符合农药残留分析的要求。

2.6 样品的测定

取适量蔬菜样品,按1.2.2方法处理后,按给定的色谱条件测定农药残留,结果见表1。

表1 蔬菜样品农药残留(mg/kg)

农药名称	被检蔬菜			
	白菜	豇豆	苦瓜	黄瓜
甲基对硫磷	未检出	0.0627	未检出	未检出
对硫磷	0.0121	0.0236	未检出	未检出

依照我国食品卫生标准GB14874-94、GB5127-1998规定,蔬菜中甲基对硫磷和对硫磷的残留量不得检出,测定结果显示,部分蔬菜中有机磷农药污染还比较严重。

3 结论

应用RP-HPLC法同时测定蔬菜中甲基对硫磷和对硫磷,具有精密、灵敏、准确且简单易行的特点,比传统气相色谱法更能满足目前的要求,可用于残留量检测。

参考文献:

- [1] 李红英,王淑华,杨红娟,等.甲基对硫磷在小白菜上的降解动态及最终残留量[J].宁夏工程技术,2003,2(4):340-341.
- [2] 王莹,牛森,王勇,等.气质联用快速检测蔬菜中农药多残留量[J].农药,2005,44(5):219-221.
- [3] 帅琴,杨薇,郑岳君,等.固相微萃取与气相色谱-质谱测定有机磷杀虫剂的残留量[J].色谱,2003,21(3):273-276.
- [4] Huang G M, Baeyens W R G, Yang Y P, et al. High-performance liquid chromatographic assay of dichlorvos, isocarbophos and methyl parathion from plant leaves using chemiluminescence detection[J]. Anal Chim Acta, 2002, 474: 21-29.
- [5] Hernandez F, Sancho J V, Pozo O J. An estimation of the exposure to organophosphorus pesticides through the simultaneous determination of their main metabolites in urine by liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. Journal of Chromatography B, 2004, 808: 229-239.
- [6] 李珊,张兰,陈国南.毛细管胶束电动色谱分离测定对硫磷、甲基对硫磷、水胺硫磷和克百威[J].福州大学学报(自然科学版),2003,31(2):219-221.