

气相色谱质谱联用法对农产品中 8 种 种衣剂农药残留的同时测定

陈 跃¹, 卢晓宇², 赵汗青², 黄 梅², 徐超一², 王金花²

(1. 北京化工大学 理学院, 北京 100029; 2 北京出入境检验检疫局, 北京 100026)

摘 要: 应用气相色谱-质谱联用仪 (GC-MS) 建立了水果、蔬菜、粮谷等农产品中 8 种种衣剂农药残留的分析测定方法。样品用乙腈提取, 通过石墨化碳或 C₁₈ 固相萃取小柱净化, 经 DB-5ms 气相色谱柱分离, 电子轰击电离 (EI)、选择离子监测模式 (SIM) 对定量离子和定性离子进行 MS 测定。标准工作曲线范围 0.02 ~ 0.5 mg/L。样品中添加水平为 0.005、0.010 和 0.020 mg/kg 时, 回收率为 74% ~ 110%; 相对标准偏差小于 15%。检出限 (S/N = 3) 为 0.09 ~ 0.77 μg/kg。

关键词: 气相色谱-质谱; 种衣剂; 农药残留; 农产品

中图分类号: O657.63; S481.8 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-4957(2008)10-1084-05

Simultaneous Determination of Pesticide Residues from Seed Coating in Agricultural Products Using GC-MS

CHEN Yue¹, LU Xiao-yu², ZHAO Han-qing², HUANG Mei², XU Chao-yi², WANG Jin-hua²

(1. School of Science, Beijing University of Chemical Technology, Beijing 100029, China;

2 Beijing Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Beijing 100026, China)

Abstract: A GC-MS method for simultaneous determination of 8 pesticide residues from seed coating reagent in fruits, vegetable or grain has been developed. The pesticide residues were extracted using acetonitrile as solvent and cleaned up by Cleanert PestiCarb or C₁₈ solid-phase extraction column. Then, the target compounds were separated by gas chromatography with DB-5ms capillary column and determined by mass spectrometry using positive electron ionization under selected ion monitoring (SIM) mode. The standard curves for all pesticides were linear over the concentration range of 0.02 - 0.5 mg/L with correlation coefficient of no less than 0.999. The detection limits ranged from 0.09 μg/kg to 0.77 μg/kg. The average recoveries of radish sample spiked with these pesticides at three concentration levels of 0.005, 0.010 and 0.020 mg/kg ranged from 74% to 110% with RSDs less than 15% were obtained. The results demonstrated that the method was suitable for the qualitative and quantitative determination of 8 pesticide residues from seed coating reagent in fruit, vegetable or grain samples.

Key words: GC-MS; seed coating reagent; pesticide residue; agricultural products

种衣剂由农药原药 (杀虫剂、杀菌剂等), 或加入微肥、激素、成膜剂、分散剂、防冻剂和其他助剂加工制成, 可直接或经稀释后包于种子表面, 形成具有一定强度和通透性的保护层膜的农药制剂^[1]。种衣剂一般有 3 种类型: 农药剂型、生物剂型、复合型。从目前商品化的种衣剂农药来看, 以农药剂型占多数^[2]。随着种衣剂应用范围的不断扩大, 其应用目的也由开始的规范播种发展到防病治虫、提高抗逆性、促进作物生长等^[3]。然而, 含有化学农药的种衣剂在杀灭有害生物的同时, 往往给人类健康带来危害, 且污染环境。各国政府相继制定了严格的农药残留限量 (maximum residue limits, MRLs)。本文涉及的五氯硝基苯、七氟菊酯、毒死蜱、三唑酮、甲基异柳磷、氟虫腈、莠锈灵、戊唑醇 8 种种衣剂农药在欧盟、美国、日本等国家都有明确的 MRLs, 范围介于 0.002 ~ 5 mg/kg^[4-5]。为保护我国人

收稿日期: 2008-03-24; 修回日期: 2008-04-22

基金项目: 国家质检总局科技计划资助项目 (2006 IK220)

第一作者: 陈 跃 (1983-), 男, 山东临沂人, 硕士研究生

通讯作者: 王金花, Tel: 010-58619247, E-mail: wangjh@bjciq.gov.cn

民健康和农产品贸易的顺利进行, 建立准确、快速、高灵敏度的种衣剂农药残留检测方法显得尤为重要。

张志刚等^[6]曾应用气质联用法 (GC-MS) 测定进口巴西“毒大豆”中种衣剂农药残留; 也有文献对种衣剂农药单组分残留检测方法做过报道^[7-11], 但针对种衣剂农药的多残留气相色谱-质谱联用法检测的报道很少。本文利用气相色谱-质谱技术分别对水果、蔬菜、粮谷中 8 种种衣剂农药的残留进行同时分析, 对样品前处理方法进行优化, 以乙腈提取, 固相萃取小柱净化, 有效降低了本底干扰, 提高了检测灵敏度, 可满足目前国内外相关农药残留检测限量的要求, 提高了样品中种衣剂农药的多残留检测能力。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

Agilent 6890N-5975B GC/MS 联用仪 (安捷伦公司, 美国); KQ-250 型超声波清洗器 (江苏昆山市超声仪器有限公司); EYELA-1000 旋转蒸发仪 (Rikakikai 公司, 日本); DSY- 型自动快速浓缩仪 (北京金科精华苑技术研究所); VisiprepTM 固相萃取装置 (Supelco 公司, 美国); 石墨化碳固相萃取柱和 C₁₈ 固相萃取柱: 6 mL/500 mg (Waters 公司, 美国)。正己烷、丙酮、乙腈、甲苯均为色谱纯 (J. T. Baker 公司, 美国)。8 种种衣剂农药标准品纯度均大于 97% (Labor Dr. Ehrenstorfer - Schaefer, 德国)。将标准品以甲苯配制成 1 000 mg/L 的标准储备液, 置于 -20 °C 冰箱保存, 使用期限至少为 12 个月。

1.2 分析方法

1.2.1 提取与净化 (1) 水果、蔬菜类样品: 称取 10.00 g 粉碎好的试样于 50 mL 离心管中, 加 30 mL 乙腈以及过量氯化钠并超声提取 40 min, 将提取液以 8 000 r/min 离心 10 min, 取 15 mL 上层清液于鸡心瓶中, 旋转蒸发至近干。将 10 mL 正己烷以 2 滴/s 的速率通过石墨化碳固相萃取柱, 并保持柱体湿润。用 2 mL 正己烷-丙酮 (体积比 80:20) 溶解鸡心瓶中残渣, 以 1 滴/s 的速率通过小柱, 并收集于 10 mL 玻璃离心管中, 然后仍以约 10 mL 正己烷-丙酮 (体积比 80:20) 洗脱固相萃取小柱, 合并洗脱液, 氮气吹干后用甲苯定容到 1 mL, 供 GC-MS 检测。

(2) 粮谷类样品: 称取 10.00 g 经粉碎后过 0.45 mm 筛的试样于 250 mL 三角瓶中, 加入足量的水浸润 30 min。除过 C₁₈ 固相萃取柱, 并用乙腈洗脱外, 其余步骤同 (1)。

1.2.2 色谱、质谱条件 (1) DB-5ms 毛细管色谱柱: 30 m × 0.25 mm × 0.25 μm (膜厚); 载气: 高纯氦气 (纯度不小于 99.999%), 流速: 1.2 mL/min; 起始柱温 100 °C, 保持 1 min, 以 30 °C/min 升至 130 °C, 再以 5 °C/min 升至 250 °C, 最后以 10 °C/min 升至 300 °C, 保持 5 min; 进样方式: 不分流, 1 min 后打开分流阀; 进样量: 2 μL; 进样口温度: 290 °C。

(2) 电离方式: 电子轰击电离源 (EI); 电子能量: 70 eV; 四极杆温度: 150 °C; 离子源温度: 230 °C。选择离子监测: 每种化合物分别选择 1 个定量离子, 2~3 个定性离子。每种化合物的保留时间、定性离子与定量离子, 参见表 1。根据各农药的保留时间选择监测离子, 分时段分别监测。8 种种衣剂农药的 SM 色谱图见图 1。

表 1 8 种种衣剂农药的保留时间和特征离子

Table 1 The retention time and characteristic ions of 8 pesticides from seed coating reagent

Pesticide	Retention time	Start time	Quantitative ion	Qualitative ion	Dwell time t/ms
	t _R /min	t /min	m/z	m/z	
Quintozene (五氯硝基苯)	15.04	5.00	237	295, 214, 142	80
Tefluthrin (七氟菊酯)	16.17	14.10	177	197, 141	100
Chlorpyrifos (毒死蜱)	19.47	16.60	197	199, 314	50
Triadimefon (三唑酮)	19.99	16.60	57	208, 128	50
Isofenphosmethyl (甲基异柳磷)	20.61	18.85	367	369, 213	100
Fipronil (氟虫腈)	21.41	19.80	143	235, 87	100
Carboxin (莠锈灵)	24.02	21.50	250	125, 70	100
Tebuconazole (戊唑醇)	27.31	24.40	199	121, 241	100

2 结果与讨论

2.1 样品前处理条件的选择

2.1.1 提取条件的选择 分别用振荡和超声的方法进行提取, 对比振荡和超声的回收率时发现, 在相同的条件下采用振荡提取, 其不同浓度水平的添加回收率偏低。故选择超声提取。超声提取时应将水浴温度控制在 40 以下, 以避免目标检测物分解。

2.1.2 提取溶剂的选择 靳保辉等^[12]采用正己烷-丙酮溶液(体积比 2:1)有效提取了茶叶中的有机氯农药残留, 毕波^[13]、刘荔彬等^[14]在检测食品中的农药残留时均采用乙腈作为提取液。本文则分别用乙腈、丙酮、乙酸乙酯、正己烷-丙酮(体积比 2:1)作提取液, 对不同水平的添加回收率表明, 各种提取液回收率相近, 但乙腈提取时的杂质较少。故选择乙腈作为提取溶剂。

2.1.3 净化方法的选择 由于水果蔬菜类样品中含有大量色素, 石墨化碳固相萃取柱能够很好地吸附色素而不吸附农药。Johnstone等^[15]检测样品中的有机氯农药残留时采用石墨化碳固相萃取柱净化。本文比较了 100%正己烷以及不同体积配比(95:5、90:10、80:20)的正己烷-丙酮作为洗脱溶剂时的洗脱效率。由添加回收实验发现, 洗脱效率随溶剂的极性增大而增大, 但随着丙酮体积分数的增加洗脱的杂质也增加, 其中用正己烷洗脱, 洗脱效率最低(不大于 50%), 而正己烷-丙酮(80:20)作为洗脱溶剂最为理想, 效率较高(不小于 70%), 且洗脱的杂质较少。

由于粮谷类样品中通常含有较多的油脂, 所以选用 C₁₈柱进行净化, LOPEZ-BLANCO等^[16]在测定样品中的硫丹时采用甲醇活化, 正己烷洗脱。本文分别用乙腈、丙酮、正己烷、甲醇活化和洗脱 C₁₈柱。由不同添加水平的回收率实验发现, 用乙腈活化和洗脱固相萃取柱时回收率相对较高。所以选用乙腈活化和洗脱 C₁₈柱。

2.2 线性范围与检出限

本方法对 8 种农药标准系列溶液进行 GC-MS 测定, 标准系列溶液的质量浓度分别为 0.02、0.05、0.10、0.20、0.30、0.40、0.50 mg/L, 不过原点作标准工作曲线。结果表明, 该 8 种农药在 0.02~0.50 mg/L 范围内与响应值具有良好的线性关系。线性关系、检出限($S/N=3$)见表 2。

2.3 方法的回收率与精密度

选择萝卜为基质做添加回收实验, 在 3 组各 6 个空白样品中分别加入 50、100 和 200 μ L 的 1.0 mg/L 种衣剂农药标准溶液, 按“1.2”方法进行处理测定, 计算回收率(添加水平分别为 5、10、20 μ g/kg, 回收率为 3 个水平的均值)和精密度。测定结果表明, 种衣剂农药的平均回收率及相对标准偏差等指标均满足定量分析要求, 结果见表 2。样品空白和添加时的离子色谱图分别见图 2。

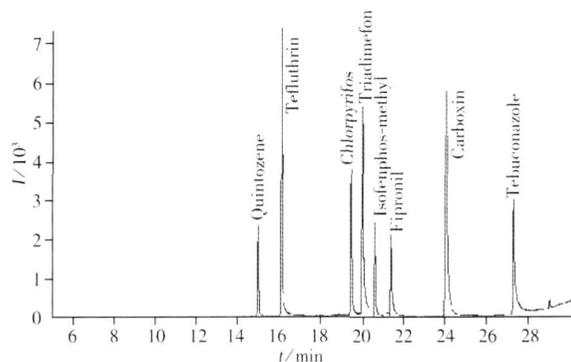


图 1 8 种种衣剂农药标准物质的 SM 色谱图
Fig. 1 SM chromatogram of 8 pesticide standards

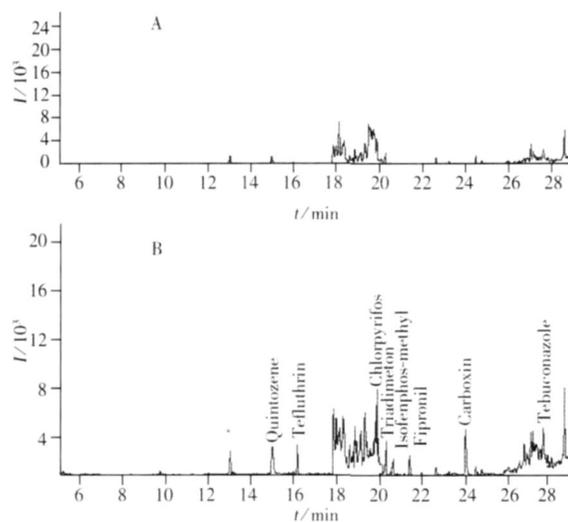


图 2 萝卜样品空白(A)及添加 8 种农药标准品(5 μ g/kg)(B)的选择离子监测(SM)色谱图
Fig. 2 SM chromatogram of radish blank sample (A) and spiked with 8 pesticides at 5 μ g/kg (B)

表 2 8 种种衣剂农药的回归方程、相关系数、检出限以及萝卜样品的添加回收率和相对标准偏差 ($n = 6$)Table 2 The regression equations, r and detection limits of 8 pesticides and recoveries and RSDs of 8 pesticides in radish sample ($n = 6$)

Pesticide	Regression equation [*]	r	Fortified concentration	Average recovery	RSD	Detection limit($S/N = 3$)
			$w / (\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1})$	$R / \%$	$s_r / \%$	$w / (\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1})$
Quintozene (五氯硝基苯)	$y = 188x - 364$	0.999 3	5	88	13.87	0.29
			10	84	14.73	
			20	74	5.69	
Tefluthrin (七氟菊酯)	$y = 696x + 1\ 260$	0.998 7	5	88	6.73	0.16
			10	89	12.32	
			20	97	8.82	
Chlorpyrifos (毒死蜱)	$y = 242x + 530$	0.999 2	5	106	3.89	0.51
			10	105	6.55	
			20	95	4.60	
Triadimefon (三唑酮)	$y = 1\ 550x - 4\ 050$	0.998 8	5	93	7.85	0.54
			10	93	14.32	
			20	88	11.52	
Isofenphosmethyl (甲基异柳磷)	$y = 323x + 557$	0.998 9	5	110	3.41	0.17
			10	107	6.85	
			20	102	2.62	
Fipronil (氟虫腴)	$y = 389x - 654$	0.999 1	5	102	5.02	0.35
			10	104	6.29	
			20	103	5.34	
Carboxin (锈锈灵)	$y = 1\ 400x + 1\ 030$	0.999 2	5	107	2.53	0.09
			10	107	4.89	
			20	100	6.28	
Tebuconazole (戊唑醇)	$y = 388x - 1\ 070$	0.999 4	5	95	5.03	0.77
			10	91	2.90	
			20	94	6.28	

* y : value of response; x : concentration of pesticide (mg/L)

分别以大豆、西红柿、洋葱为基质添加上述标准, 回收率为 70% ~ 110%, 相对标准偏差小于 15%, 满足该类产品的农药残留定量分析要求。

参考文献:

- [1] 吴学宏, 张文华, 刘鹏飞. 中国种衣剂农药的研究应用及发展趋势 [J]. 植保技术与推广, 2003, 23(10): 36 - 38
- [2] 张红辉, 石勇伟. 种衣剂农药研究的新进展 [J]. 种子, 2002, 2: 39 - 40
- [3] 杜光玲, 赤国彤. 种衣剂及其发展应用的研究 [J]. 中国农学通报, 2002, 18(2): 52 - 57.
- [4] 林维宣. 各国食品中农药兽药残留限量规定 [M]. 大连: 大连海事大学出版社, 2002
- [5] 葛志荣, 李元平, 黄冠胜, 等. 日本肯定列表制度 - 食品中农业化学品残留限量 [M]. 药品卷. 北京: 中国标准出版社, 2006
- [6] 张志刚, 郑向华, 施冰, 等. 进口巴西“毒大豆”中种衣剂农药残留分析方法研究 [J]. 检验检疫科学, 2004, 14(1): 6 - 10.
- [7] 施海萍, 王驰, 李大文, 等. 稻谷中几种有机磷农药残留的检测方法 [J]. 粮油食品科技, 2007, 15(4): 54 - 55.
- [8] 赵海峰, 刘永波, 孙立新, 等. GC - MSD 法快速测定蔬菜中四种农药残留方法的改进 [J]. 化学分析计量, 2004, 13(5): 25 - 27.
- [9] 何娟, 万郑凯, 康长安, 等. 蔬菜中十六种农药残留的 SM - GC - MS 分析 [J]. 现代农药, 2007, 6(3): 27 - 29.
- [10] 王梦月, 李晓波, 周兢, 等. 气相色谱法测定罗汉果中有机氯农药残留量 [J]. 中国药学杂志, 2007, 42(9): 702 - 705.
- [11] 刘建平, 张福金. 种衣剂农药中甲基异柳磷和三唑酮的气相色谱测定法 [J]. 内蒙古农业科技, 2006, 3: 35.
- [12] 靳保辉, 陈沛金, 谢丽琪, 等. 茶叶中 25 种有机氯农药多残留气相色谱测定方法 [J]. 分析测试学报, 2007, 26(1): 104 - 106
- [13] 毕波, 周艳明, 牛森. 蔬菜、水果中农药多残留的快速分析方法 [J]. 现代农业科技, 2006, 3: 33 - 34.
- [14] 刘荔彬, 端裕树, 秦亚萍, 等. 农产品中多种农药残留的气相色谱质谱快速检测 [J]. 分析化学, 2006, 34(6): 783 - 786

(下转第 1090 页)

5%的甲醇为有机改性剂,其它条件如“1.2”所示。在此条件下,实验运用 CEC手性配体交换法可实现对 *D/L*-Leu的基线分离,*L*-Leu和 *D*-Leu的保留时间分别为 12.5、13.4 min。

2.7 检出限与线性范围

在优化的分离条件下,*L*-Leu和 *D*-Leu在 0.05~1.5 mmol/L 范围内浓度(X)与峰面积(Y)呈良好的线性关系,回归方程分别为 $Y_{(L-Leu)} = 5.00 \times 10^6 X_{(L-Leu)} + 5.76 \times 10^3$ ($r = 0.9970$); $Y_{(D-Leu)} = 5.00 \times 10^6 X_{(D-Leu)} - 3.79 \times 10^3$ ($r = 0.9960$)。检出限为 10 μ mol/L ($S/N = 3$)。

2.8 精密度

配制 0.1 mmol/L 的 *D/L*-Leu 溶液,按照实验方法,分别考察日内(5次)和 5 d 内的日间相对标准偏差,得出 *L*-Leu 的日内和日间相对标准偏差分别为 2.61% 和 2.98%,而 *D*-Leu 的日内和日间相对标准偏差分别为 2.88% 和 3.39%。

3 结 论

CEC手性配体交换法在分离游离氨基酸异构体方面一直未取得较好的结果。Davankov认为寻找合适的手性选择配体是 CEC手性配体法分离的一个重要突破口^[1]。而本研究组通过研究发现 CEC的电渗流和压力流在异构体分离中所起的具体作用也是 CEC手性配体法实现游离氨基酸异构体分离的突破口之一,由于加压 CEC主要驱动力为压力流,通过改变电场方向与电压可以保持电场作用和分配作用的相互匹配,提高分离选择性^[4]。本研究中,作者应用加压毛细管电色谱,在压力流基础上佐以电渗流推动流动相,根据 Leu-手性配体络合物在固定相和流动相之间的分配及其自身电泳迁移率的差异而得以有效分离。

致谢:上海通微分析技术有限公司阎超博士对本研究工作给予了大量指导,特此感谢!

参考文献:

- [1] DAVANKOV VA. Enantioselective ligand exchange in modern separation techniques[J]. J Chromatogr. A, 2003, 1000 (1/2): 891 - 915.
- [2] 杨俊佼,苏秀兰,方平,等. 加压毛细管电色谱对白藜芦醇的分析测定[J]. 色谱, 2004, 22(3): 270 - 274.
- [3] 姜廷福,梁冰,李菊白,等. 双胶束双手性添加剂电动毛细管色谱法手性分离西替利嗪及其中间体[J]. 分析测试学报, 2002, 21(5): 68 - 70.
- [4] 邓玉林,张建华,顾峻岭,等. 压力流驱动电色谱分析方法及其若干色谱行为[J]. 分析化学, 1998, 26(12): 1413 - 1418.
- [5] XN Yanfei. Determination of NG-nitro-arginine enantiomers in rat plasma by capillary electrochromatography with a chiral mobile phase[M] // Ryuichi Konna. D-amino acids: a new frontier in amino acid and protein research. New York: Nova Science Publisher, 2006: 111 - 114.
- [6] CHEN Zilin, HOBOT T. Chemically *L*-phenylalaninamide-modified monolithic silica column prepared by a sol-gel process for enantioseparation of dansyl amino acids by ligand exchange-capillary electrochromatography[J]. Anal Chem, 2001, 73(14): 3348 - 3357.

(上接第 1087页)

- [15] JOHNSTONE J J, PETTY E E, VOLZ S A. Solid phase extraction GC/ECD method for the analysis of organochlorine pesticides in wildlife plasma[J]. J High Resolut Chromatogr, 2005, 20(8): 405 - 409.
- [16] LOPEZ-BLANCO M C, REBORDA-RODRIGUEZ B, CANCHO-GRANDE B, et al. Optimization of solid-phase extraction and solid-phase microextraction for the determination of α - and β -endosulfan in water by gas chromatography electron-capture detection[J]. J Chromatogr. A, 2002, 976: 293 - 299.