

气相色谱法测定禽蛋中微量有机氯农药及多氯联苯的残留

安 琼 , 董元华 , 倪 俊 , 王 辉 , 靳 伟

(中国科学院南京土壤研究所, 江苏 南京 210008)

摘要 建立了以正己烷振荡提取, 以 PCB₂ 和 PCB₂₀₉ 为内标的快速检测禽蛋中微量有机氯污染物的气相色谱法。与传统的索氏提取法相比, 在保证足够的准确度、精确度和灵敏度的前提下, 具有前处理简单、测试成本低、标本用量少的特点, 而且可同时测定有机氯农药和典型的多氯联苯类化合物的残留, 特别适于检测食品中的微量有机污染物。用该方法测试的结果表明, 标准全蛋粉添加 ng/g 级待测物时, 各种待测物的回收率为 84.31% ~ 116.77% (3 次测定平均值); 相对标准偏差为 6% ~ 18% (7 次测定平均值); 最低检出量为 0.07 ng/g ~ 0.35 ng/g。中国部分城市市售鸡蛋中的有机氯农药以 *p, p'*-DDE 的检出量最高, *p, p'*-DDT 次之; 多氯联苯的检出量很低, 大多数样品中多氯联苯的总检出量低于 10 ng/g。在所检出的多氯联苯中, 绝大部分为含氯低的(氯原子数为 3 ~ 5)的氯化物。

关键词 气相色谱; 电子捕获检测; 有机氯农药; 多氯联苯同系物; 残留; 禽蛋

中图分类号: O658 文献标识码: A 文章编号: 1000-871X(2002)02-0167-05

Determination of Organochlorine Pesticides and Polychlorinated Biphenyl Congeners Residues in Eggs by Gas Chromatography with Electron Capture Detection(GC-ECD)

AN Qiong, DONG Yuan-hua, NI Jun, WANG Hui, JIN Wei

(Institute of Soil Science, The Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210008, China)

Abstract: A procedure of clean-up with H₂SO₄ after extraction with a shaking machine using *n*-hexane, and fast determination of some organochlorine residues in eggs by GC-ECD with PCB₂ and PCB₂₀₉ as internal standards was established. The test results showed that with this method satisfactory recoveries (84.31% - 116.77%), relative standard deviation (6% - 18%) and detection limits (0.07 ng/g - 0.35 ng/g) could be obtained. In comparing with the Soxhlet method, this method is simpler in pre-treatment, lower in cost and less in sample amount. It can determine organochlorine pesticides and some PCBs in the same extract, simultaneously with enough accuracy, sensitivity and permissible RSD. It is a suitable procedure for determining micro-amounts of organochlorine pollutants in foods. The results showed that *p, p'*-DDE was detected in maximum; *p, p'*-DDT next; and PCBs very little, that were usually less than 10 ng/g in the eggs from some Chinese markets. It was found that most of PCBs in eggs were the congeners with 3 - 5 chlorine atoms.

Key words: gas chromatography; electron capture detection; organochlorine pesticide; polychlorinated biphenyl congener; residue; egg

有机氯农药自 20 世纪初合成以来, 曾大量用于农业生产, 促进了农产品产量的大幅度提高。但由于有机氯农药在环境中的强持留性及其在脂肪中的高度累积性, 已被发达国家相继禁用, 我国于 1983 年停止生产并于 1986 年在农业上全面禁止使用有机氯农药。在禁用近 20 年后的今天, 仍可从各种环境介质样品中检出有机氯农药的残留物^[1~3], 部分样品中的检出量还相当高。不但我国情况如此, 而且在禁用时间比我国长得多的发达国家, 至今仍可

从环境中检出有机氯农药的残留物^[4~6]。我国 1965 年开始生产多氯联苯(PCB), 于 1974 年底停止生产, 同时从 50 年代至 70 年代进口多氯联苯以供油漆、电器等行业使用, 甚至到 80 年代初期我国部分油漆厂还在使用五氯联苯作添加剂^[7]。

微量污染物如有机氯农药残留物、多氯联苯等在禽类食物链中的传递、富集过程中, 有可能进入禽蛋并积累于其中, 因此建立健全禽蛋中微量有机氯污染物的检测方法对于农副产品品质的控制十分重

要。近年来,发达国家越来越重视中微量有机物如兽药、抗生素、农药及多氯联苯对禽蛋的污染^[8],遗憾的是现有测试方法均需将有机氯农药如六六六(HCH)滴滴涕(DDT)与 PCB 分离,然后分别测定^[9]。此类测试法不仅样品前处理冗长,工作量和劳动强度大,而且需要进口昂贵的吸附剂作净化剂,因而测试成本过高。此外,欧美国家在检测环境样品中的 PCB 时,多以 Aroclor 1254 或 Aroclor 1260 为标准物^[10],这两种混合物中大部分化合物为高氯化合物,即分子中氯原子数较高,如 Aroclor 1254 中氯原子数 ≥ 6 的组分占总量的 61.78%, Aroclor 1260 中氯原子数 ≥ 6 的组分占总量的 89.70%^[11]。根据我国生产和使用的多氯联苯多为低氯化合物的特点,应选用含氯低的 PCB 为标准物,重点检测含氯原子数为 3~6 的 PCB。

本文介绍一种新方法,适用于测试禽蛋中微量含氯有机污染物,不仅具有前处理简单、实验成本低(使用常规化学试剂便可满足样品的净化要求)、标本用量少、灵敏度高和重复性好的特点,而且可同时测定禽蛋中有机氯农药和典型多氯联苯类化合物的残留。

1 实验部分

1.1 实验材料、设备和仪器

无水硫酸钠,分析纯,于 650 °C 烘烤 4 h,待冷至室温后置于全玻璃容器中密封贮存,待用;浓硫酸(质量分数为 98%),分析纯;正己烷,分析纯,重蒸馏,收集 68 °C 时的馏分于全玻璃容器中,密封贮存,待用;苯,分析纯,重蒸馏,收集 72 °C 时的馏分于全玻璃容器中,密封贮存,待用;体积分数为 7% 的硫酸钠水溶液。

往复式振荡机,离心机(4 500 r/min),20 mL 螺旋口离心管及 2 mL 螺旋口样品瓶,螺旋盖,聚四氟乙烯内衬垫,密封性好;60 mL 脂肪萃取器;200 mL 分液漏斗。

Hewlett 5890-II 气相色谱仪,配电子捕获检测器(GC-ECD)(HP 公司);HW-2000 型色谱工作站(南京千谱软件有限公司);毛细管柱 HP-5 ϕ .32 μ m i.d. \times 30 m(HP 公司)。

1.2 标样

全蛋粉 参照物 8415,加拿大国家标准和技术研究所研制,实验中作为蛋粉对照。

内标 PCB₂ 和 PCB₂₀₉。准确称取内标物,分别用重蒸苯溶解,配制成质量浓度各为 2 g/L 的内标储备液,取此标准储备液以正己烷稀释成混合内标添加液,其中 PCB₂ 和 PCB₂₀₉ 的质量浓度分别为

10.0 mg/L 和 0.5 mg/L。

有机氯农药:含 4 种六六六异构体(α -HCH, β -HCH, γ -HCH, δ -HCH) 3 种滴滴涕异构体(p , p' -DDE; o , p' -DDE; p , p' -DDT)及七氯、艾氏剂等标准物的农药混合标准液,各种农药的质量浓度均约为 2 mg/L,溶剂为正己烷-甲醇液(体积比为 1:1),购于 Supelco 公司。取此混合标准液以正己烷逐步稀释,配制成校正曲线工作液,其农药的质量浓度分别为:8.0 μ g/L,16.0 μ g/L,32.0 μ g/L,64.0 μ g/L 和 100.0 μ g/L,各工作标样中内标 PCB₂ 和 PCB₂₀₉ 的质量浓度分别为 1 000 μ g/L 和 50 μ g/L。

多氯联苯:按国际纯粹与应用化学联合会(IUPAC)命名分别为 PCB₂₈,PCB₅₂,PCB₇₀,PCB₇₄,PCB₆₆,PCB₈₇,PCB₉₉,PCB₁₀₁,PCB₁₁₈,PCB₁₅₃,PCB₁₄₁,PCB₁₃₈,PCB₁₈₅,PCB₁₈₀ 和 PCB₁₉₄ 共 15 种 PCB 同系物标准物,购于 Chem Service 公司。准确称取各种标准物分别用重蒸馏苯溶解,配制质量浓度各为 2 g/L 的标准储备液。取各种储备液适量,以正己烷稀释成混合标准母液,其中 PCB₁₅₃,PCB₁₄₁,PCB₁₃₈,PCB₁₈₅,PCB₁₈₀ 和 PCB₁₉₄ 的质量浓度各为 300 mg/L,其余组分的质量浓度各为 400 mg/L。取混合标准母液以正己烷逐步稀释,配制成校正曲线工作液,其质量浓度范围为 2.5 μ g/L ~ 200 μ g/L,各工作标样中内标 PCB₂ 和 PCB₂₀₉ 的质量浓度分别为 1 000 μ g/L 和 50 μ g/L。

1.3 实验方法

将禽蛋去壳,蛋清蛋黄混匀,置于开口玻璃容器中于 45 °C 烘干至恒重,于研钵中研碎后收集于容器中,待用。

1.3.1 振荡提取法 准确称取经烘烤的无水硫酸钠 2.0 g 及禽蛋粉 0.200 g ~ 0.500 g,置于小型研钵中,研成粉状物后转入 20 mL 离心管中,用微量进样器加入内标添加液 50 μ L,待溶剂挥发干后,摇匀。提取:加重蒸正己烷 4.0 mL,旋紧螺旋盖,样品在振荡机上振荡提取 3 min,置于离心机中离心 3 min,转速为 4 200 r/min。用一次性滴管将提取液转至另一 20 mL 螺旋口离心管中,蛋粉提取再重复上述过程两次,合并提取液,得提取液约 12 mL。酸性净化:加浓硫酸 1 mL 至提取液中,旋紧螺旋盖,振荡 3 min,离心,用一次性滴管将已变为棕褐色的下层浓硫酸吸出,弃去此废酸液。此过程重复数次,直至下层浓硫酸洗出液无色为止。浓缩定容:将经净化处理后的提取液转入一干净试管,置于约 40 °C 水浴中,在氮气流保护下吹干。准确加入 0.5 mL 重蒸正己烷,用涡旋混匀器将试管中溶液混匀(0.5 min),用一次性滴管吸取混匀的溶液置于 2 mL 样

品瓶中,旋紧瓶盖,置于冰箱内低温避光保存,待色谱测定。一周内完成样品的测试。

1.3.2 索氏提取法 将待测样品包于滤纸筒中置于脂肪萃取器中,加重蒸正己烷 50 mL,水浴 72 °C,回流 6 h。将提取液转入分液漏斗中,加入浓硫酸 5 mL,上塞,振荡 3 min,静置分层,弃去下层废酸液。重复此过程数次,直至浓硫酸洗出液无色为止。加 50 mL 体积分数为 7% 的硫酸钠水溶液水洗提取液 3 次,弃水相,正己烷层经无水硫酸钠柱脱水后,收集至 K-D 浓缩仪中浓缩至约 2 mL,再在氮气保护下吹干。准确加入 0.5 mL 重蒸正己烷,后处理同“1.3.1”节中“浓缩定容”的相关部分。

每次样品前处理的同时,平行做 1~2 个试剂的空白试验,以扣本底。

1.4 测定

在开始对样品进行 GC-ECD 测试之前,先测定标准工作液,直到相应组分色谱响应值稳定后开始进标样,制作校正曲线,之后进行样品测定。以峰高内标法或峰高单点内标法定量。在实施单点内标法定量时,可视样品浓度范围取合适浓度的标样为定量参照物,并以该标样 3~5 次色谱峰高之平均值求得校正因子。无论是校正曲线还是单点定量法,在大量样品测试的过程中都需再取标准工作液进样,获得色谱响应值,对校正曲线或校正因子进行必要的修订,以保证测试结果的准确性。

测试条件:载气为高纯氮气,柱前压 55 kPa,尾吹 60 mL/min,进样量为 1 μ L,不分流进样,进样口温度 210 °C,检测器温度 310 °C,柱温 140 °C,保持 2 min 后以 2.5 °C/min 的速率升温至 265 °C,再以 15 °C/min 的速率升温至 290 °C,保持 3 min。

2 结果与讨论

2.1 回收率及其影响因素

在 0.5 g 全蛋粉参照物中添加有机氯农药标准工作液和 PCB 标准工作液各 0.5 mL (各组分准确浓度值见表 1),待溶剂挥干后,加内标添加液 50 μ L,混匀,分别用前述索氏提取法和振荡提取法对待测物进行提取、净化、浓缩定容和 GC-ECD 测定。所得添加回收率列于表 1。

从表 1 可看出,选定的 9 种有机氯农药和供试的 15 种多氯联苯用索氏提取与振荡提取均可获得良好的回收率。但索氏提取时间较长,试剂用量大,且需特定的提取装置,而振荡提取对设施的要求简单,提取时间短,回收率高,完全可满足本方法对禽

蛋中微量有机污染物测定的要求。

表 1 有机氯农药和多氯联苯的添加回收率($n=3$)

Table 1 Fortified recoveries of organochlorine pesticides and PCBs ($n=3$)

Analyte	Number of Cl in PCBs	Added (ng/g)	Recovery(%)	
			Soxhlet extraction	shake extraction
α -HCH		8.00	94.81	98.38
β -HCH		8.00	108.58	98.38
γ -HCH		8.00	107.41	103.50
δ -HCH		8.00	85.03	84.31
PCB ₂₈	3	6.25	106.24	110.32
Heptachlor		8.00	106.81	102.94
PCB ₅₂	4	6.25	108.22	103.36
Aldrine		8.00	97.09	88.25
PCB ₇₄	4	4.75	111.18	107.58
PCB ₇₀	4	4.50	112.53	119.16
PCB ₆₆	4	5.38	98.98	108.46
PCB ₁₀₁	5	3.75	98.83	89.55
PCB ₉₉	5	6.13	108.08	104.98
PCB ₈₇	5	5.50	103.96	86.03
p, p' -DDE		8.00	112.40	112.50
PCB ₁₁₈	5	5.13	122.28	109.06
p, p' -DDD		8.00	98.24	99.06
PCB ₁₅₃	6	2.50	108.00	103.60
PCB ₁₄₁	6	3.25	115.58	116.77
p, p' -DDT		8.00	97.74	95.88
PCB ₁₃₈	6	2.50	104.44	111.88
PCB ₁₈₅	7	2.75	113.11	107.67
PCB ₁₈₀	7	2.50	98.20	96.80
PCB ₁₉₄	8	3.13	120.02	108.15

试验结果还表明,振荡提取的次数对多氯联苯的回收率影响并不突出,但对有机氯农药残留物的回收率有明显的影响。如 3 种 HCH 在第 1 次提取时回收率均 < 60%,经 3 次提取后方接近 90%,故在测定有机氯农药残留物以振荡提取 3 次为佳。

2.2 色谱分离情况

图 1 为有机氯农药及多氯联苯同系物混合标样的气相色谱谱图,图 2 为某市市售鸡蛋提取液的气相色谱图。从图 1、图 2 可见,在选定的色谱条件下,待测组分得到良好的分离,完全满足实际样品测定的需要。

2.3 方法的精密度及最小检出质量浓度

根据最小检出质量浓度 C_{\min} (μ g/L) 的计算公式: $C_{\min} = \frac{C \times 2 \times N}{h}$ (式中: C 为标样的质量浓度, μ g/L; N 为仪器噪声, μ V; h 为标样峰高, μ V) 得各待测组分的 $C_{\min}^{[10]}$,并折算成最小检测限(ng/g),结果见表 2。

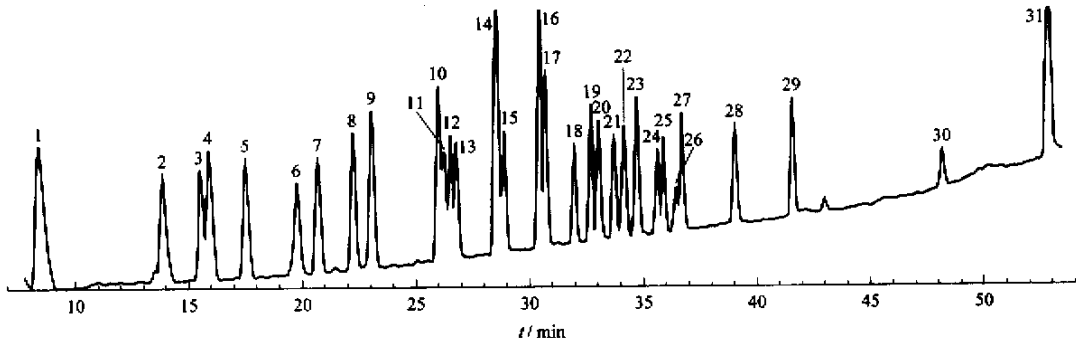


图 1 有机氯农药及多氯联苯同系物标样色谱图

Fig. 1 Chromatogram of organochlorine pesticides and PCBs

1. PCB₂ (internal standard); 2. α -HCH; 3. β -HCH; 4. γ -HCH; 5. δ -HCH; 6. PCB₂₈; 7. heptachlor; 8. PCB₅₂; 9. aldrin; 10. heptachlorepoxyde; 11. PCB₇₄; 12. PCB₇₀; 13. PCB₆₆; 14. PCB₁₀₁; 15. PCB₉₉; 16. PCB₈₇; 17. *p, p'*-DDE; 18. endrin; 19. endrin aldehyde; 20. PCB₁₁₈; 21. *p, p'*-DDD; 22. β -endosulfan; 23. PCB₁₅₃; 24. PCB₁₄₁; 25. endosulfan sulfate; 26. *p, p'*-DDT; 27. PCB₁₃₈; 28. PCB₁₈₅; 29. PCB₁₈₀; 30. PCB₁₉₄; 31. PCB₂₀₅ (internal standard).

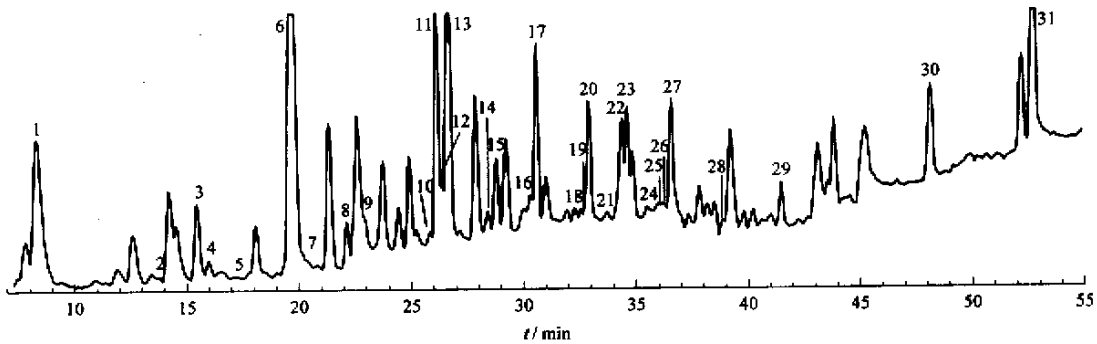


图 2 市售鸡蛋提取液的色谱图

Fig. 2 Chromatogram of organochlorine pesticides and PCBs in an egg available from a market

Peak identifications are the same as in Fig. 1.

表 2 方法的精密度 ($n=7$) 和不同待测物的最小检出量Table 2 Precision ($n=7$) and the minimum detectable amounts for the method

Analyte	C_{\min} (ng/g)	RSD (%)	Analyte	C_{\min} (ng/g)	RSD (%)
α -HCH	0.35	8	PCB ₉₉	0.20	9
β -HCH	0.30	13	PCB ₈₇	0.10	18
γ -HCH	0.25	17	<i>p, p'</i> -DDE	0.19	15
δ -HCH	0.27	10	PCB ₁₁₈	0.18	8
PCB ₂₈	0.30	15	<i>p, p'</i> -DDD	0.31	17
Heptachlor	0.29	8	PCB ₁₅₃	0.07	8
PCB ₅₂	0.19	8	PCB ₁₄₁	0.16	7
Aldrin	0.21	18	<i>p, p'</i> -DDT	1.11	8
PCB ₇₄	0.19	12	PCB ₁₃₈	0.09	6
PCB ₇₀	0.28	13	PCB ₁₈₅	0.11	16
PCB ₆₆	0.19	14	PCB ₁₈₀	0.09	13
PCB ₁₀₁	0.04	9	PCB ₁₉₄	0.35	12

The concentrations added are the same as in Table 1.

从表 2 可见,各待测组分的最小检出量均 ≤ 0.35 ng/g,这足以满足禽蛋中微量有机氯污染物的检测需要。尽管添加量较低,但本方法对所有组分的测定均可获得良好的精密度,大部分化合物的

RSD 值在 10% 左右,仅少数几个组分的 RSD 值略高,但仍小于 20%。

2.4 微量有机污染物在蛋清及蛋黄中的分布状况

由于本方法中所有待测物多为亲脂性有机物,故在脂质含量不同的样品中分布不一。表 3 所示为某市市售鸡蛋中污染物的分布状况。从表 3 中所列数据可以看出,同一蛋内蛋清、蛋黄中各种污染物的含量有很大差异,除 α -HCH 外,绝大部分待测物在蛋黄中的含量远远高于其在蛋清中的检出值。此外,由于蛋清的干物质量低,蛋粉的干物质量主要取决于蛋黄,因此可粗略地认为污染物主要分布于蛋黄中。同时,在需要测定全蛋粉中污染物的含量时,必须将蛋粉充分研磨混匀,否则可能因取样的不均匀而造成测试结果的不准确。

2.5 方法的应用

应用本文介绍的方法对我国几个大城市市售鸡蛋中的含氯有机污染物进行了检测,结果表明,在所收集到的 17 个供试样品中均检出了不同种类的待测组分(见表 4)。其中,有机氯农药的检出量以

p, p'-DDE 最高, 均值为 30.83 ng/g; 其次为 *p, p'*-DDT, 均值为 23.49 ng/g。多氯联苯的检出量很低, 就所选择的 PCB 而言, 大多数样品中多氯联苯的总检出量低于 10 ng/g, 仅在一个样品中发现多氯联苯检出量较高, 总量约 150 ng/g, 而且检出量较高的多氯联苯大部分为含氯低的(氯原子数多为 3~5)的 PCB 同系物。

表 3 含氯有机污染物在鸡蛋中的分布状况

Table 3 Distribution of organochlorine pollutants in an egg available from a market

Analyte	Yolk	Egg white	Whole egg
α -HCH	0.60	1.10	0.60
β -HCH	5.97	1.23	7.28
PCB ₂₈	73.00	7.46	57.00
PCB ₅₂	3.20	1.10	3.30
PCB ₇₄	14.90	1.90	12.30
PCB ₇₀	4.40	1.00	4.30
PCB ₆₆	25.30	2.90	20.30
PCB ₁₀₁	1.10	0.50	1.60
PCB ₉₉	6.40	1.40	6.80
PCB ₈₇	1.30	0.50	2.00
<i>p, p'</i> -DDE	12.90	2.30	12.20
PCB ₁₁₈	6.80	0.70	7.60
PCB ₁₅₃	2.60	0.30	2.60
PCB ₁₄₁	0.70	0.10	1.60
PCB ₁₃₈	10.60	1.20	8.90

表 4 部分城市市售鸡蛋中含氯有机污染物检出情况

Table 4 Results for organochlorine pollutants in eggs available from markets

Analyte	Range	Mear(n = 17)
α -HCH	1.31 - 6.36	2.62
β -HCH	0.31 - 7.27	1.92
γ -HCH	0.84 - 9.80	3.53
δ -HCH	ND - 1.49	0.21
<i>p, p'</i> -DDE	2.2 - 696.0	30.83
<i>p, p'</i> -DDD	ND - 7.58	1.10
<i>p, p'</i> -DDT	ND - 501.8	23.49
PCB ₃	0.81 - 80.33	12.33
PCB ₄	0.26 - 35.56	6.22
PCB ₅	0.75 - 10.69	3.26
PCB ₆	0.08 - 4.61	1.56
PCB ₇	0.51 - 1.42	0.78
PCB ₈	0.63 - 4.32	2.32

ND : not detected.

综上所述, 大部分市售鸡蛋中有机氯污染物的

含量不是很高, 但不可忽视的是: 少数样品中有机氯污染物仍有很高残留量。应该注意到, 禽蛋是我国居民动物蛋白摄入的主要品种之一, 长期食用含有有机氯污染物的禽蛋, 可能对人体尤其是对婴幼儿的生长造成危害。我们认为, 首先应该对这些污染物进入食物链的途径加以研究, 制定对策, 如建立健全养鸡饲料的质量控制法规, 以防止污染物在食物链中的传导和积累; 其次, 在历史上曾大量使用过强持留性有机氯农药的某些地区, 要着重研究控制或阻断污染物经土壤-作物-动物体系的传导和积累而进入食品的方法, 以保证人类健康生存。

参考文献:

[1] GONG Zhong-ming, DONG Yuan-hua, AN Qiong, et al. Environmental Science, 2001, 22(2):110
龚钟明, 董元华, 安 琼, 等. 环境科学, 2001, 22(2): 110

[2] GONG Zhong-ming, DONG Yuan-hua, AN Qiong. China Environmental Science, 2001, 21(2):124
龚钟明, 董元华, 安 琼. 中国环境科学, 2001, 21(2):124

[3] SU Jing-wu, CONG Qing-mei, ZHANG Ji-fen, et al. Journal of Environment and Health, 2001, 18(1):29
苏敬武, 丛庆美, 张吉芬, 等. 环境与健康杂志, 2001, 18(1):29

[4] Sala M, Sunyer J, Otero R, et al. Occupational and Environmental Medicine, 1999, 56(3):152

[5] Hargrave B T, Phillips G A, Vass W P, et al. Environ Sci Technol, 2000, 34(6):980

[6] Kim J H, Smith A. Chemosphere, 2001, 43(2):137

[7] WANG Ji-de, JIANG Ke, CHEN Rong-li. China Environmental Science, 1981, 1(3):76
王极德, 蒋 可, 陈荣莉. 中国环境科学, 1981, 1(3): 76

[8] Schenck F J, Donoghue D J. J Agric Food Chem, 2000, 48:6412

[9] Fasola M, Movailli P A, Gandini C. Arch Environ Contam Toxicol, 1998, 34:87

[10] Pain D J, Burneleau G, Bavoux C, et al. Environmental Pollution, 1999, 104:61

[11] Schulz D E, Petritck G, Dulnker J. Environ Sci Technol, 1989, 23(7):852