

农药残留测定用新型混合型固相萃取小柱的开发

苗水, 王柯*, 陆继伟, 李雯婷, 于建

(上海市食品药品检验所, 上海 201203)

[摘要] 目的: 开发新型农药残留用固相萃取小柱, 简化农药残留前处理时间, 提高测定效率。方法: 选用农药残留常用的几种固相萃取填料, 按照一定比例制备混合型固相萃取小柱, 考察各种小柱对常见的 92种农药的回收率, 同时以菠菜为考察对象, 考察各填料对菠菜的净化效果, 最终筛选出符合要求的固相萃取小柱。结果: 最终得到的固相萃取小柱在仅以乙腈为淋洗剂的情况下可以对 92种农药获得较好的回收率, 同时可以有效对样品实现净化。结论: 本文开发出的固相萃取小柱净化效果好, 简化了农药前处理步骤, 将大大提高水果、蔬菜中农药多残留的效率。

[关键词] 农产品; 农药残留; 新型混合型固相萃取小柱

[中图分类号] X592 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1004-8685(2011)01-0007-06

The innovation of new mixture type of SPE columns for the determination of pesticide residues in produces

SHUIMiao KE Wang*, LU Ji-wei LI Wen-ting YU Jian

(Department of Traditional Chinese Medicine, Shanghai Institute for Food and Drug Control, Shanghai 201203, China)

[Abstract] **Objective** To develop a new SPE column for pesticide residue tests. With this new SPE column, higher test proficiency and reduced sample preparation time can be obtained. **Methods** Several types of SPE columns were made from several packing materials common in use at different ratios. And then their performances were evaluated by clean-up results of the dirty spinach samples and recoveries of 92 pesticides. **Results** One type of the SPE columns was selected as our final choice and further evaluation related to recoveries of 92 pesticides were conducted. The final SPE column gave good recoveries for 92 pesticides with acetonitrile as the only eluent and satisfactory clean-up results were obtained in the meantime. **Conclusion** The final SPE columns simplifies the sample preparation of pesticide residue tests and shows satisfactory cleaning-up excellence, which could improve the proficiency of pesticide residue detection for the produces.

[Key words] New mixture type of SPE column; Pesticides residues; Produces

现今使用农药种类多样, 每一种类又包含大量的相关化合物。上述农药被施用于作物生长的各个阶段起到防治各种病虫害的作用, 或者用于收获后的作物的贮存。世界各国政府为了保障人民的食品安全, 制订了许多针对食品的最大农药残留限度 (MRLs), 同时许多国家与地区组织, 如美国, 每年都进行大规模的农药残留数据监测项目^[1]。因此, 可信赖的, 效率较高的, 农药多残留测定方法是解决当今农药残留测定的重要方面。近年来, 随着质谱技术的发展, 农药多残留测定方法取得了长足发展, 使得一种方法可以同时测定达 500余种农药残留^[2-5]。农药前处理方法也由最初的液液萃取等较为费时费力的净化方式发展为凝胶渗透色谱净化及固相萃取净化等方法。由美国农业部美东研究中心 Lehotay S. J 开发的 QuEChERS法是农残测定领域的又一次重大进展, 该方法快速、简单、廉价、高效、耐用、安全的样品前处理方法, 故根据表

明其方法特点的英文首字母取名为 QuEChERS方法^[6-14], 如今该方法已在世界各地广泛使用, 该方法提取速度较快, 取样简单, 净化采用基质分散技术 (d-SPE), 可以在 10 min 内处理 1 个样品。该方法最初所使用的净化填料为十八烷基键合硅胶 (以下简称碳十八, C₁₈) 与氨基填料 (PSA), 后来改进后的方法使用石墨化碳 (GCB), 可以去除提取液中的部分色素^[10-11], 由于 GCB 对某些农药如六氯苯、五氯硝基苯等具较强吸附, 故 d-SPE 步骤所加入的 GCB 的量远少于 C₁₈ 与 PSA 的量 (GCB:C₁₈:PSA, 7.5:100:100), 以在有效去除杂质和干扰物与保证良好农药回收率之间取得平衡。但是 QuEChERS 方法所得供试品溶液折算到样品的量为每 1 ml 相当于 1 g 样品, 这就为后续的检测仪器提出较高要求, 为了得到较低的检测限, 就气相色谱-质谱联用仪而言, 一般需要配合使用大体积进样技术 (LV I)。但是大体积进样会对进样口造成较大污染, 增加仪器维护的频次, 影响仪器连续分析效能, 而且由于 LV I 价格较高, 部分实验室不具备此项进样系统, 使该方法的应用受到一定限制。我国国家标准则收载有采用固相萃取净化方式的前处理方法^[12-3], 所得供试品溶液折算到样品的量为每 1 ml 相当于 10 g 样品, 可以达到较低的检测限, 但该样品前

[基金项目] 上海市科学技术委员会资助项目 (08DZ0504600)

[作者简介] 苗水, 硕士研究生, 主要从事食品农药残留分析及食品安全检测方法研究。

* 通讯联系人, E-mail wangkel1994@ yahoo.com.cn

处理经 C18和石墨化碳与氨基串联小柱两次净化,两次净化分别采用不同淋洗液,其中碳十八固相萃取柱用乙腈洗脱,石墨化碳与氨基串联小柱采用甲苯+乙腈(3+1 v/v)洗脱,虽得到了较好的净化效果,但操作步骤较多,前处理时间较长,大大影响了测定效率。本实验的目的是研究农药残留测定用的各种常用填料,按照一定比例混合装填这些填料,开发出一种混合装填有常用填料的固相萃取小柱,并且淋洗剂采用与提取溶剂一致的单一溶剂,力求使测定方法更加简便高效,同时具有较高的灵敏度,达到较低的检测限。

选用的填料有去除脂肪及部分色素的碳十八,还有近年来起到相似作用的亲水亲油平衡型高分子聚合填料-官能化聚苯乙烯(PEP)与未取代聚苯乙烯(PS);去除糖类与脂肪酸的氨基基填料;去除色素的石墨化碳填料。选取的农药涉及有机氯、有机磷、氨基甲酸酯类与拟除虫菊酯类农药等常见农药,还有部分国内常用的杀菌剂等农药,共计 92种。

1 材料与方 法

1.1 仪器

Agilent 6890系列气相色谱仪(美国 Agilent公司);配有 EI源的 Agilent 5793B 单重四级杆质谱仪(美国 Agilent公司);(50% -苯基)-甲基聚硅氧烷为固定相的超低流失的 DB-17MS毛细管色谱柱(30 m × 0.25 mm,膜厚 0.25 μm)。UV2550型紫外分光光度仪(日本岛津制作所);Büchi IR 200型旋转蒸发仪(瑞士 Büchi公司);高速匀浆振荡萃取仪(美国 Fluka公司)。

1.2 试剂与材料

农药标准品购自德国 Dr. Ehrenstorfer GmbH 公司和美国 Chem Service公司;内标物质三苯基磷酸酯由德国 Sigma公司提供,待测化合物见表 1;乙腈、甲醇、甲苯均为色谱纯(美国 Fluke公司);无水硫酸钠为分析纯(国药集团化学试剂有限公司,上海);A-I型固相萃取柱均由北京博纳艾杰尔科技有限公司(Agela Technologies)提供。

表 1 92种农药标准品与内标来源、批号和纯度,最佳淋洗体积

序号	农药	来源	批号	纯度(%)	淋洗体积 (ml)
1	敌敌畏	Dr. Ehrenstorfer GmbH	70221	98.00	10
2	甲胺磷	Dr. Ehrenstorfer GmbH	50624	99.00	3
3	3-羟基克百威	Dr. Ehrenstorfer GmbH	341-116B	98.00	3
4	乙酰甲胺磷	Dr. Ehrenstorfer GmbH	50913	98.00	15
5	内吸磷-o	Dr. Ehrenstorfer GmbH	60116	94.00	7
6	灭线磷	Dr. Ehrenstorfer GmbH	70402	93.00	4
7	六氯苯	Dr. Ehrenstorfer GmbH	71210	99.50	25
8	治螟磷	Dr. Ehrenstorfer GmbH	60125	96.00	4
9	甲拌磷	CHBM SERVICE	337-51A	98.00	4
10	α-六六六	Dr. Ehrenstorfer GmbH	40303	98.30	3
11	氧化乐果	Dr. Ehrenstorfer GmbH	70920	97.00	3
12	特丁硫磷	Dr. Ehrenstorfer GmbH	70507	94.00	3
13	内吸磷-s	Dr. Ehrenstorfer GmbH	60116	94.00	4

续表

序号	农药	来源	批号	纯度(%)	淋洗体积 (ml)
14	二嗪磷	Dr. Ehrenstorfer GmbH	70320	96.00	3
15	五氯硝基苯	Dr. Ehrenstorfer GmbH	20122	99.50	7
16	氯硝胺	Dr. Ehrenstorfer GmbH	60906	98.50	7
17	γ-六六六	Dr. Ehrenstorfer GmbH	51031	98.50	3
18	地虫硫磷	Dr. Ehrenstorfer GmbH	51020	94.80	3
19	久效磷	Dr. Ehrenstorfer GmbH	41124	97.00	3
20	噻霉胺	Dr. Ehrenstorfer GmbH	51108	96.00	7
21	β-六六六	Dr. Ehrenstorfer GmbH	40525	97.70	3
22	磷胺	Dr. Ehrenstorfer GmbH	41117	93.00	3
23	乐果	Dr. Ehrenstorfer GmbH	41123	98.00	3
24	七氯	Dr. Ehrenstorfer GmbH	50511	99.50	3
25	氯唑磷	Dr. Ehrenstorfer GmbH	60324	94.50	3
26	乙烯菌核利	Dr. Ehrenstorfer GmbH	11212	99.50	3
27	灭蝇胺	Dr. Ehrenstorfer GmbH	31024	99.00	15
28	δ-六六六	Dr. Ehrenstorfer GmbH	50630	98.50	3
29	百菌清	Dr. Ehrenstorfer GmbH	60213	99.50	25
30	甲基毒死蜱	Dr. Ehrenstorfer GmbH	60314	97.00	7
31	艾氏剂	Dr. Ehrenstorfer GmbH	50715	97.00	3
32	甲基对硫磷	Dr. Ehrenstorfer GmbH	60210	98.50	3
33	甲基噻啉磷	Dr. Ehrenstorfer GmbH	51129	99.00	3
34	甲霜灵	Dr. Ehrenstorfer GmbH	31111	98.50	2
35	三唑酮	Dr. Ehrenstorfer GmbH	10917	99.50	3
36	利谷隆	Dr. Ehrenstorfer GmbH	20214	99.50	4
37	毒死蜱	Dr. Ehrenstorfer GmbH	376-108B	99.00	7
38	马拉硫磷	Dr. Ehrenstorfer GmbH	31106	99.50	2
39	杀螟硫磷	Dr. Ehrenstorfer GmbH	80606	97.50	3
40	对硫磷	Dr. Ehrenstorfer GmbH	50408	99.00	10
41	噻啉磷	Dr. Ehrenstorfer GmbH	50518	98.50	3
42	氧化氯丹	CHBM SERVICE	315-62C	溶液,	3
				1000 μg/ml	
43	环氧七氯(顺式)	Dr. Ehrenstorfer GmbH	71009	98.50	2
44	倍硫磷	Dr. Ehrenstorfer GmbH	51019	96.00	4
45	甲基异硫磷	Dr. Ehrenstorfer GmbH	70301	99.00	10
46	环氧七氯(反式)	Dr. Ehrenstorfer GmbH	70112	94.00	3
47	噻菌环胺	Dr. Ehrenstorfer GmbH	60421	97.50	15
48	反式-氯丹	Dr. Ehrenstorfer GmbH	61127	98.00	3
49	水胺硫磷	Dr. Ehrenstorfer GmbH	60301	95.50	3
50	腐霉利	Dr. Ehrenstorfer GmbH	31210	98.00	2
51	灭蚜威	Dr. Ehrenstorfer GmbH	70130	99.00	2
52	顺式-氯丹	CHBM SERVICE	302-82B	99.50	3
53	α-硫丹	Dr. Ehrenstorfer GmbH	50210	98.50	3
54	噻硫磷	Dr. Ehrenstorfer GmbH	50829	99.00	10

续表

序号	农药	来源	批号	纯度 (%)	淋洗体积 (ml)
55	4,4'-滴滴伊	Dr Ehrens torfer GmbH	51020	98.50	3
56	氟酰胺	Dr Ehrens torfer GmbH	30721	99.50	2
57	狄氏剂	Dr Ehrens torfer GmbH	40618	98.30	2
58	丙溴磷	Dr Ehrens torfer GmbH	60317	98.00	7
59	克菌丹	Dr Ehrens torfer GmbH	41019	98.50	4
60	苯线磷	Dr Ehrens torfer GmbH	31020	94.50	3
61	杀扑磷	Dr Ehrens torfer GmbH	61212	98.50	2
62	噻菌灵	Dr Ehrens torfer GmbH	61019	98.50	15*
63	腈菌唑	Dr Ehrens torfer GmbH	51121	99.00	2
64	异狄氏剂	Dr Ehrens torfer GmbH	41104	97.00	3
65	2,4'-滴滴涕	Dr Ehrens torfer GmbH	20616	99.50	3
66	4,4'-滴滴滴	Dr Ehrens torfer GmbH	51021	98.00	3
67	乙硫磷	Dr Ehrens torfer GmbH	50523	96.50	2
68	咯菌腈	Dr Ehrens torfer GmbH	30430	98.00	5
69	β-硫丹	Dr Ehrens torfer GmbH	41105	99.00	2
70	4,4'-滴滴涕	Dr Ehrens torfer GmbH	30327	99.50	2
71	丙环唑	Dr Ehrens torfer GmbH	50330	97.50	3
72	环酰菌胺	Dr Ehrens torfer GmbH	41118	99.00	10*
73	联苯菊酯	Dr Ehrens torfer GmbH	70821	99.50	4
74	戊唑醇	Dr Ehrens torfer GmbH	70105	98.50	4
75	硫丹硫酸盐	Dr Ehrens torfer GmbH	30917	97.50	2
76	三唑磷	Dr Ehrens torfer GmbH	60215	81.00	5
77	甲氰菊酯	Dr Ehrens torfer GmbH	61211	99.00	3
78	氯氟菊酯	GHM SEV ICE	337-112A	99.00	3
79	伏杀硫磷	Dr Ehrens torfer GmbH	50404	98.50	15*
80	亚胺硫磷	Dr Ehrens torfer GmbH	50523	98.50	15
81	氯菊酯	Dr Ehrens torfer GmbH	70307	94.00	7
82	啶虫脒	Dr Ehrens torfer GmbH	60721	98.50	3
83	氟氯菊酯	Dr Ehrens torfer GmbH	60303	97.50	4
84	保棉磷	Dr Ehrens torfer GmbH	61010	99.00	10*
85	益棉磷	Dr Ehrens torfer GmbH	60208	98.50	10*
86	蝇毒磷	Dr Ehrens torfer GmbH	60315	96.00	10
87	氯菊酯	Dr Ehrens torfer GmbH	41222	91.00	10
88	氟氰戊菊酯	Dr Ehrens torfer GmbH	60926	87.00	3
89	氟胺菊酯	Dr Ehrens torfer GmbH	70932	96.70	10
90	氟戊菊酯	Dr Ehrens torfer GmbH	60329	98.00	5
91	溴菊酯	Dr Ehrens torfer GmbH	71206	99.00	10
92	啶菌酯	Dr Ehrens torfer GmbH	70525	99.00	3

15℃ /min 升温至 270℃, 保持 1 min, 再以 40℃ /min 升温至 315℃, 保持 12 min; 载气: 氦气, 纯度 ≥ 99.999%, 恒压模式, 柱前压: 14psi; 进样口温度: 240℃; 进样量: 2 μl; 进样方式: 无分流进样, 0.75 min 后开阀; 电子轰击源: 70 eV; 离子源温度: 230℃; GC-MS 接口温度: 280℃;

1.3.2 质谱条件的确定 每种化合物分别选择一个定量离子, 2个定性离子。所有农药需要检测的离子按照出峰顺序, 分时段分别检测。每种化合物的保留时间、定量离子、定性离子及定量离子与定性离子的丰度比值, 参见下表 2。

表 2 92种农药和内标化合物的保留时间、定量离子、定性离子及定量离子与定性离子的丰度比

序号	农药	保留时间 (min)	定量离子	定性离子 1	定性离子 2
内标	三苯基磷酸酯	34.489	326(100)	325(81)	215(24)
1	敌敌畏	6.247	109(100)	185(27)	220(5)
2	甲胺磷	7.399	141(100)	94(219)	95(135)
3	3-羟基克百威	10.429	137(100)	180(12)	147(35)
4	乙酰甲胺磷	11.762	136(100)	183(3)	94(52)
5	内吸磷-o	13.174	171(100)	88(500)	89(337)
6	灭线磷	14.102	242(100)	200(186)	158(498)
7	六氯苯	15.316	284(100)	282(53)	286(79)
8	治螟磷	15.379	322(100)	202(55)	238(33)
9	甲拌磷	15.607	260(100)	121(220)	231(64)
10	α-六六六	16.214	219(100)	181(85)	217(78)
11	氧化乐果	16.245	156(100)	110(89)	79(62)
12	特丁硫磷	16.941	231(100)	288(10)	153(31)
13	内吸磷-s	17.025	170(100)	88(528)	60(219)
14	二嗪磷	17.548	304(100)	179(28)	137(231)
15	五氯硝基苯	17.588	295(100)	237(154)	249(120)
16	氯硝胺	18.077	206(100)	176(104)	160(59)
17	γ-六六六	18.316	219(100)	181(129)	217(79)
18	地虫硫磷	18.461	246(100)	137(114)	109(236)
19	久效磷	18.467	127(100)	192(17)	223(4)
20	噻霉胺	18.954	198(100)	199(47)	200(6)
21	β-六六六	19.545	219(100)	181(113)	217(79)
22	磷胺 I	19.617	264(100)	127(301)	138(63)
23	乐果	19.672	229(100)	125(705)	87(1295)
24	七氯	19.815	272(100)	237(47)	337(25)
25	氯唑磷	19.872	161(100)	257(39)	285(25)
26	乙烯萘核利	20.215	285(100)	212(131)	198(120)
27	灭蝇胺	20.718	151(100)	166(45)	165(41)
28	δ-六六六	21.066	219(100)	181(122)	217(79)
29	百菌清	21.133	266(100)	264(78)	268(48)
30	甲基毒死蜱	21.378	286(100)	288(70)	125(65)
31	艾氏剂	21.408	263(100)	265(68)	293(43)

1.3 气相色谱质谱法测定条件

1.3.1 气相色谱条件 经反复摸索确定以下气相色谱条件。气相色谱梯度升温程序: 80℃ 保持 1 min, 然后以 30℃ /min 程序升温至 140℃, 再以 5℃ /min 升温至 215℃, 保持 5 min, 再以

续表

序号	农药	保留时间 (min)	定量离子	定性离子 1	定性离子 2
32	磷胺 II	21.667	264(100)	127(230)	138(64)
33	甲基对硫磷	22.247	263(100)	125(124)	109(144)
34	甲基嘧啶磷	22.295	305(100)	290(146)	276(127)
35	甲霜灵	22.435	206(100)	249(42)	234(33)
36	三唑酮	23.058	208(100)	210(34)	181(35)
37	利谷隆	23.074	248(100)	187(165)	189(107)
38	毒死蜱	23.089	314(100)	258(62)	286(42)
39	马拉硫磷	23.52	173(100)	158(43)	127(99)
40	杀螟硫磷	23.608	277(100)	260(56)	247(18)
41	对硫磷	23.874	291(100)	139(63)	109(148)
42	噻啉磷	23.893	333(100)	318(104)	304(80)
43	氧化氯丹	23.948	387(100)	237(113)	185(195)
44	环氧七氯(顺式)	24.931	353(100)	355(81)	351(53)
45	倍硫磷	25.144	278(100)	169(23)	153(17)
46	甲基异硫磷	25.191	199(100)	231(33)	241(26)
47	环氧七氯(反式)	25.604	237(100)	289(65)	317(33)
48	噻菌环胺	26.062	224(100)	225(63)	210(11)
49	反式-氯丹	26.307	373(100)	375(94)	377(51)
50	水胺硫磷	26.342	289(100)	230(298)	136(544)
51	腐霉利	27.079	283(100)	285(66)	255(14)
52	灭蚜威	27.245	329(100)	296(67)	159(203)
53	顺式-氯丹	27.259	373(100)	375(97)	377(52)
54	α -硫丹	27.505	241(100)	265(63)	339(40)
55	啶硫磷	27.66	298(100)	146(583)	157(369)
56	4,4'-滴滴伊	28.828	318(100)	316(79)	246(158)
57	氟酰胺	29.004	323(100)	281(178)	173(907)
58	狄氏剂	29.041	263(100)	277(58)	345(19)
59	丙溴磷	29.326	374(100)	339(262)	297(130)
60	克菌丹	29.373	79(100)	151(17)	149(17)
61	苯线磷	29.423	303(100)	288(34)	217(39)
62	杀扑磷	29.679	145(100)	302(3)	125(19)
63	噻菌灵	29.912	201(100)	174(92)	202(17)
64	腈菌唑	30.239	179(100)	150(52)	288(12)
65	异狄氏剂	30.332	263(100)	217(30)	345(34)
66	2,4'-滴滴涕	30.737	235(100)	237(64)	165(50)
67	4,4'-滴滴涕	31.012	235(100)	237(65)	165(54)
68	乙硫磷	31.027	231(100)	384(12)	153(81)
69	咯菌腈	31.071	248(100)	182(19)	154(32)
70	β -硫丹	31.287	237(100)	265(56)	339(38)
71	4,4'-滴滴涕	32.034	235(100)	237(65)	165(49)
72	丙环唑	32.148	259(100)	173(122)	261(68)
73	环酰菌胺	32.273	301(100)	177(301)	266(69)

续表

序号	农药	保留时间 (min)	定量离子	定性离子 1	定性离子 2
74	丙环唑	32.305	259(100)	173(138)	261(68)
75	联苯菊酯	32.403	181(100)	165(31)	166(29)
76	戊唑醇	32.698	250(100)	125(146)	252(35)
77	硫丹硫酸盐	33.114	387(100)	389(69)	272(227)
78	三唑磷	33.544	161(100)	172(44)	257(29)
79	甲氧菊酯	33.99	265(100)	181(321)	209(94)
80	氟氯菊酯 I	34.463	181(100)	197(72)	208(44)
81	氟氯菊酯 II	34.805	181(100)	197(73)	208(45)
82	伏杀硫磷	35.853	367(100)	182(18)	154(30)
83	亚胺硫磷	36.014	160(100)	161(12)	317(4)
84	氯菊酯 I	36.538	183(100)	163(20)	165(22)
85	氯菊酯 II	36.709	183(100)	163(26)	165(27)
86	啶虫脒	36.953	152(100)	126(75)	221(32)
87	氟氯菊酯 I	37.098	206(100)	227(43)	163(120)
88	保棉磷	37.178	160(100)	132(580)	77(556)
89	氟氯菊酯 II	37.19	206(100)	227(38)	163(120)
90	氟氯菊酯 III	37.306	206(100)	227(38)	163(130)
91	益棉磷	37.545	160(100)	132(127)	77(284)
92	蝇毒磷	37.68	362(100)	364(41)	226(76)
93	氟氯菊酯 I	37.737	181(100)	163(79)	165(88)
94	氟氯菊酯 I	37.814	451(100)	199(681)	157(524)
95	氯菊酯 II	37.85	181(100)	163(68)	165(83)
96	氟氯菊酯 III	37.975	181(100)	163(86)	165(87)
97	氟氯菊酯 II	38.095	451(100)	199(601)	157(476)
98	氟胺菊酯 I	38.394	250(100)	252(36)	181(47)
99	氟胺菊酯 II	38.533	250(100)	252(36)	181(49)
100	氟戊菊酯 I	39.371	419(100)	167(619)	181(444)
101	氟戊菊酯 II	39.729	419(100)	167(607)	181(491)
102	溴氯菊酯	41.16	253(100)	181(33)	251(9)
103	噻菌酯	45.369	403(100)	344(409)	388(167)

注: * 表中磷胺及部分菊酯类农药由于存在多种异构体,会出现多个色谱峰成分,各成分用农药名加罗马数字 I II III IV 等来表示

2 结果与讨论

2.1 固相萃取小柱的制备与不同填料净化效果的考察

2.1.1 A-E 固相萃取小柱的制备 取待选填料 1)封端 C18 2)PSA 3)石墨化碳黑 4)PEP 聚合物 5)PS 聚合物,分别按下表 3 比例进行装填,装填填料的总量为 1000 mg 柱管体积 6 mL

2.1.2 A-E 柱净化效果考察 选取基质较为复杂的菠菜作为考察对象,按照如下步骤考察净化效果:

称取 15 g 充分粉碎并匀浆处理过的试样 15 \pm 0.02 g 于 50 mL 聚苯乙烯具塞离心管中,加入 15 mL 含 0.1% 冰乙酸乙腈溶液,剧烈振摇 1 min 加入 6 g 无水硫酸钠,1.5 g 无水乙酸

钠,再次剧烈振摇 1 min后,以 4000 r/min 的转速离心 1 min,待净化。准确吸取所得提取液 5 ml 氮气流下吹至约 1 ml 加于已制备好的固相萃取小柱上,以乙腈 20 ml 淋洗,收集淋洗液,即得。另取菠菜提取液 1 ml 加乙腈 3 ml 稀释,摇匀,作为菠菜对照液。

将收集所得淋洗液与菠菜对照液分别测定紫外可见光谱,测定波长范围为 200 nm ~ 800 nm (其中 200 nm ~ 400 nm 用以监测提取液中小分子,400 nm ~ 800 nm 用以监测色素,所得吸收曲线下端峰面积可以直观反应提取共萃物与干扰测定物质的量),所得图谱见下图 1。

表 3 A-E 固相萃取小柱填料配比

SPE 柱	C18	PSA	GCB	PEP	PS
A	100	100	15	0	0
B	0	100	15	25	0
C	0	100	12	15	0
D	0	100	15	0	25
E	0	100	12	0	15

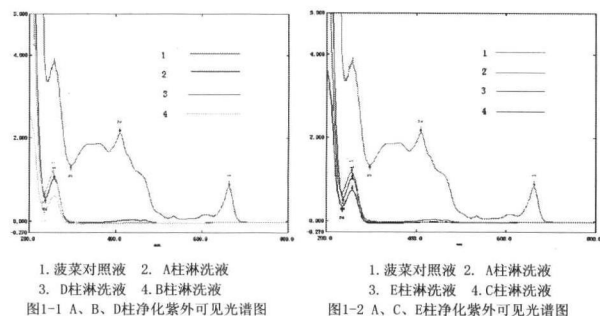


图 1 5种固相萃取小柱净化效果考察

由图可见各柱均有效去除了菠菜中大部分杂质,其中 B、C 柱净化效果略好于 A、D 和 E 柱,但净化效果差别不大,后对 A、B、C 柱的进行了进一步农药回收率的考察,发现含 PEP 填料的 B、C 柱对灭蝇胺、环酰菌胺、六氯苯、五氯硝基苯等农药的回收率较差,故最终选取封端 C18/PS 填料,石墨化碳黑与 PSA 进行进一步的考察,通过比例优化得到农药回收率高与净化效果好的固相萃取小柱。

2.2 固相萃取小柱的优选与农药回收率考察

2.2.1 F-I 固相萃取小柱的制备 针对待选填料 1) 封端 C18 2) PSA 3) 石墨化碳黑 4) PS 聚合物,分别按一定比例进行装填,装填填料的总量为 1000 mg 柱管体积 6 ml 制得 4 种规格的固相萃取小柱,分别编号为 F、G、H 和 I 柱。

2.2.2 F-I 固相萃取小柱对相关农药回收率的考察 取 1 μg/ml 标准品溶液加于各固相萃取小柱上,分别以乙腈 5 ml、10 ml、15 ml、20 ml 和 25 ml 淋洗,取淋洗液与 40℃ 水浴减压蒸至 1 ml 再于氮吹仪上吹至近干,加入内标溶液 1 ml 使溶解,取标准品溶液与所得溶液进行气相色谱-质谱分析,计算回收率,绘制淋洗曲线。A-E 柱回收率不好的农药的淋洗曲线见下图 2 (纵坐标为各农药回收率,单位%;横坐标为淋洗体积,单位 ml)。

由淋洗曲线可知, F、G、H 和 I 柱在淋洗体积 25 ml 时对除

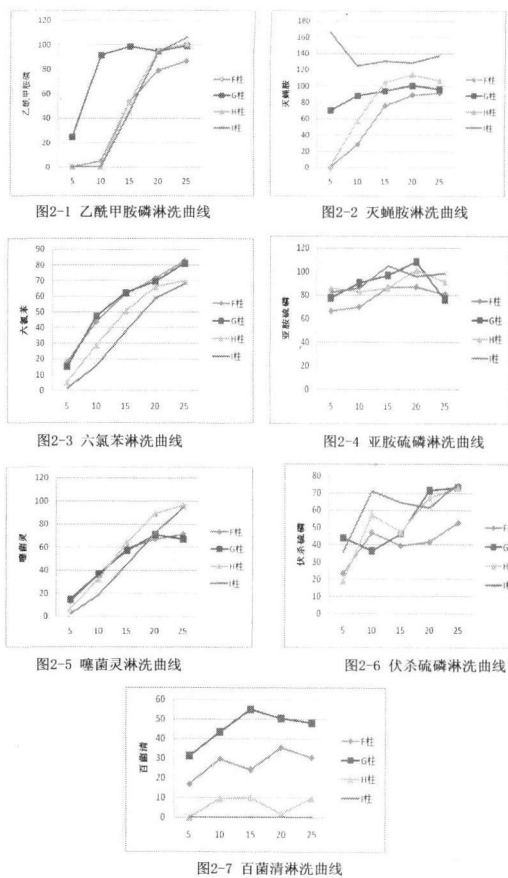


图 2 典型回收率低农药在 F-I 柱上的淋洗曲线

百草清外的 6 种农药有较好的回收率, G 和 I 柱则在 15 ml 淋洗体积时即可对 6 种农药实现良好的回收率,考虑到 G 柱淋洗体积 10 ml 时即可对乙酰甲胺磷得到较好的回收率,同时对百草清的回收率也可达到约 50%,故最终选择 G 柱作为最终确定的固相萃取小柱。

2.3 G 柱对各农药淋洗体积的考察

分别以乙腈为溶剂配制各农药储备溶液,再以乙腈为溶剂经适当稀释制得含各农药浓度为 1 μg/ml 混合标准品溶液,取该溶液 1 ml 加于 G 型固相萃取小柱上,分别以乙腈 1 ml、2 ml、3 ml、5 ml、7 ml、10 ml、15 ml、20 ml 和 25 ml 淋洗,每一洗脱体积平行进行 2 个重复的试验,取淋洗液于 40℃ 水浴减压蒸至 1 ml 再于氮吹仪上吹至近干,加入内标溶液 (1 μg/ml) 1 ml 使溶解,另制备含内标与各农药浓度均为 1 μg/ml 的溶液作为标准品溶液,将该标准品溶液与过柱后所得的供试溶液进行气相色谱-质谱分析,计算各农药在 G 柱上的回收率,绘制各农药淋洗曲线。取各农药回收率大于 90% 的最小淋洗体积作为最佳淋洗体积,各农药最佳淋洗体积详见表 1。

根据表 1 数据,绘制不同淋洗体积所能洗脱农药占全部农药的百分比图,见图 3 由图可见一半以上农药在淋洗体积为 3 ml 时即可完全回收;大部分农药 (70%) 在淋洗体积 5 ml 以下即可实现完全回收 (回收率 > 90%),绝大多数农药 (91%) 在淋洗体积 10 ml 时可实现完全回收,余下部分农药在 15 ml 淋洗体积时虽不能完全回收 (再增加淋洗体积回收率改善不明显),但仍可满足回收率大于 60% 定量要求,回收率低于 60% 的农药则可以使用本方法定性分析,综合各种因素选

用 15 ml 作为最终淋洗体积。



图 3 不同淋洗体积可回收农药所占比率

3 讨论

本试验通过查阅大量的相关资料和文献,结合本实验室的条件和多年检测经验,在样品处理方面,针对水果与蔬菜这一常见基质,分析比较了多种前处理手段,开发出一种混合型填料的固相萃取小柱,简化了样品前处理的步骤,该柱主要具有以下优点,下面分别予以阐述。

(1)样品净化仅通过 1 种固相萃取小柱完成。这与日本肯定列表方法和庞国芳课题组 2006 年开发参照加拿大食品卫生署的方法不同^[2-4],该两种方法都为采用 2 种固相萃取小柱,需要进行 2 次固相萃取步骤,操作较为繁琐。

(2)经多次摸索,科学配比,新开发的固相萃取小柱所选溶剂为与提取用溶剂一致的乙腈,省去了复杂且可能造成待测农药带来损失的溶剂交换步骤。

(3)肯定列表方法和庞国芳课题组 2006 年开发参照加拿大食品卫生署的方法使用甲苯/乙腈混合溶剂作为淋洗剂,由于甲苯难以除尽,在使用液相色谱-串联质谱分析时,残留的少量甲苯会对出峰时间较早的农药如甲胺磷等的峰形产生较大影响,而本混合型固相萃取小柱的开发,则完全避免了甲苯的使用,对将来的液相色谱-串联质谱分析农药残留将起到可以预见的积极作用。

(4)较 QuEChERS 方法而言,采用该固相萃取小柱,起到了样品浓缩作用,有效地富集了待测农药,降低了检测限,使得大部分农药检测限低于日本肯定列表的 0.01 mg/kg 的限度要求。

(5)由于洗脱溶剂与提取溶剂一致,简化了实验步骤,省去了配制混合洗脱剂这一步骤,简化了试验步骤,同时避免了因洗脱剂配制错误而对实验结果带来的影响。

[参考文献]

[1] [http://www.ams.usda.gov/AMSv10/pdp\[EB/OL\]](http://www.ams.usda.gov/AMSv10/pdp[EB/OL]).
 [2] GB/T 19648-2006 水果和蔬菜中 500 种农药及相关化学品残留的测定 气相色谱-质谱法[S].

[3] GB/T 20769-2006 水果和蔬菜中 405 种农药及相关化学品残留量的测定 液相色谱-串联质谱法[S].
 [4] Fillion J, Sauve F, Jennifer S. Multiresidue Method for the Determination of Residues of 251 Pesticides in Fruits and Vegetables by Gas Chromatography/Mass Spectrometry and Liquid Chromatography with Fluorescence Detection[J]. JAOAC Int 2000 83(3): 698.
 [5] Cao YZ, Pang GF, Zhang JJ *et al*. Determination of Residues of 446 Pesticides in Fruits and Vegetables by Three- Cartridge Solid- Phase Extraction- Gas Chromatography- Mass Spectrometry and Liquid Chromatography- Tandem Mass Spectrometry[J]. JAOAC Int 2006 89(3): 740
 [6] M Anastassiades SJ Lehotay, D Štajnbaher *et al*. Fast and Easy Multiresidue Method Employing Acetonitrile Extraction/Partitioning and "Dispersive Solid- Phase Extraction" for the Determination of Pesticide Residues in Produce[J]. JAOAC Int 2003, 86(2): 412
 [7] S J Lehotay. Determination of Pesticide Residues in Foods by Acetonitrile Extraction and Partitioning with Magnesium Sulfate Collaborative Study[J]. JAOAC Int 2007, 90(2): 485
 [8] S J Lehotay, K Maštovska, A R Lightfield Use of Buffering and Other Means to Improve Results of Problematic Pesticides in a Fast and Easy Method for Residue Analysis of Fruits and Vegetables[J]. JAOAC Int 2005, 88(2): 615
 [9] T Čajka, J Hájšová, O Laciňá, K Maštovska *et al*. Rapid analysis of multiple pesticide residues in fruit- based baby food using programmed temperature vaporiser injection- low- pressure gas chromatography- high- resolution time- of- flight mass spectrometry[J]. J Chromatogr A, 2008 (1- 2): 281
 [10] CEN Standard Method EN 15662[S]. (www. cen. eu).
 [11] U Koesukivatt, K Sanguankae, N Leepitapiboon. Rapid Determination of Phenoxy Acid Residues in Rice by Modified QuEChERS Extraction and Liquid Chromatography- Tandem Mass Spectrometry[J]. Anal Chim Acta, 2008 626(1): 10
 [12] B Kmeřt, P Fodor, L Pareja *et al*. Validation and uncertainty study of a comprehensive list of 160 pesticide residues in multi- class vegetables by liquid chromatography- tandem mass spectrometry[J]. J Chromatogr A, 2008 1215(1- 2): 37.
 [13] A Garrido- Frenich, JL Martínez- Vidal, E Pastor- Montoro *et al*. High- throughput determination of pesticide residues in food commodities by use of ultra- performance liquid chromatography- tandem mass spectrometry[J]. Anal Bioanal Chem, 2008, 390(3): 947.
 [14] Wang J, D Leung. Determination of 142 Pesticides in Fruit- and Vegetable- Based Infant Foods by Liquid Chromatography/Electrospray Ionization- Tandem Mass Spectrometry and Estimation of Measurement Uncertainty[J]. JAOAC Int 2009, 92(1): 279

(收稿日期: 2010- 09- 13)