

【论著】

冻干技术在果蔬中有机氯及多种拟除虫菊酯农药残留检测中的应用

林国斌, 于凌志, 倪蕾, 唐昌东

(福建省疾病预防控制中心, 福州 350001)

【摘要】 目的:应用冻干技术建立果蔬中有机氯及多种拟除虫菊酯农药残留检测方法。**方法:**应用冻干技术去除果蔬中的水分,以丙酮-二氯甲烷(1:1)为提取溶剂,经 CARB/NH₂ 和 Florisil 固相萃取柱净化,用 GC-ECD 测定,峰面积定量。**结果:**10 种农药加标回收率为 80.8%~95.4%,相对标准偏差为 1.8%~4.8%,最低检出浓度为 0.001~0.005 mg/kg (当称样量为 5.00 g 时)。**结论:**冻干技术对检测结果影响较小,而且前处理过程中有机溶剂的用量大大减少了,操作简单,检测结果的重现性及方法回收率明显改善,该方法适合果蔬中 1 种有机氯及 9 种拟除虫菊酯类农药残留的同时检测,尤其适合大批量农残样品的检测。

【关键词】 冻干技术; 果蔬; 农药残留

【中图分类号】 R155.5

【文献标识码】 A

【文章编号】 1004-8685(2008)01-0016-03

Application of freezing - drying method for determination of organochlorines and pyrethroid pesticides multiresidues in fruits and vegetables

Lin Guo-bin, Yu Ling-zhi, Ni Lei, Tang Chang-dong

(Fujian Center for Disease Control and Prevention, Fuzhou 350001, China)

【Abstract】 Objective: To establish a method for determination of pesticides residues using freezing - drying method. **Methods:** After drying up by freezing - drying method, the moisture of fruits and vegetables was extracted by the acetone and dichloromethane solvent (v:v = 1:1), then cleaned up with the CARB/NH₂ and Florisil solid phase extract column. The residues were detected by GC-ECD and quantified with the area of peak. **Results:** The recoveries of 10 organochlorines and pyrethroid pesticide multiresidues were 80.8%~95.4%, the RSD 1.8%~4.8%, the minimum detection concentrations 0.001~0.005 mg/kg (as the detection quantity of samples were 5.00 g). **Conclusion:** Freezing - drying method slightly affects the result of determination and uses less organic solvent. The method is simple, convenient and suitable for the analysis of the 1 organochlorines and 9 pyrethroid pesticides multiresidues in fruits and vegetables, especially for the analysis of quantities of samples.

【Key words】 Freezing - drying method; Fruits and vegetables; Pesticide residues

目前,我国《食品卫生检验方法》中 GB/T5009.110-2003、GB/T5009.146-2003 对植物性食品中农药多残留检测的前处理时,过多的水分是影响检测的主要因素之一,国标方法中多采用加无水硫酸钠去水,用有机溶剂对植物性食品中农残进行浸提后,以液-液萃取和柱层析方法提取和净化样品,其结果不仅消耗大量有机溶剂,操作繁琐,而且检测结果重现性及方法的回收率均不理想^[1,3]。本方法采用冻干技术不仅有效地除去果蔬中的水分,对检测结果影响较小,而且前处理过程中有机溶剂的用量大大减少了,操作简单,检测结果的重现性及方法回收率明显改善,10 种农药加标回收率为 80.8%~95.4%,相对标准偏差为 1.8%~4.8%,最低检出浓度为 0.001~0.005 mg/kg (当称样量为 5.00 g 时)。本方法应用在国家食品污染物监测农药多残留检测,结果令人满意。

1 材料与方法

1.1 试验原理

果蔬样品经粉碎后取适量通过冻干去水,用适量丙酮-二氯甲烷(体积比为 1:1)浸泡提取,提取液经浓缩,分别通过 CARB/NH₂ 和 Florisil 固相萃取柱净化^[2,4,5],用气相色谱-电子捕获检测器(GC-ECD)测定 1 种有机氯和 9 种菊酯类农药。

1.2 仪器

气相色谱仪(GC-17A 日本岛津)带 ECD 检测器;FD-1 冷冻干燥机(北京德天佑科技发展有限公司);小型粉碎机;旋转蒸发器;吹氮仪;离心机。

1.3 试剂与材料

丙酮,乙腈,正己烷,乙酸乙酯,二氯甲烷(均为农残级);无水硫酸钠,氯化钠(分析纯,650℃烘 4 h);农药标准:三氯杀螨醇、氰戊菊酯、氯氰菊酯、氯菊酯、溴氰菊酯、氟氯菊酯、联苯菊酯、甲氰菊酯纯度为 94.5%~99.2%之间,由中国 CDC 营养与食品安全所提供,用丙酮配成 100.0 μg/ml 标准储备液,使用时用正己烷配制不同浓度的混合标准使用液;5、10 ml

【基金项目】 福建省自然科学基金资助项目(Z0516065)

【作者简介】 林国斌(1967-),男,大学本科,副主任技师,主要从事食品卫生理化检验工作。

带刻度具塞试管, 100 ml 蒸馏瓶, 125 ml 三角瓶, 30 ml K-D 浓缩器, 100 ml 四氟乙烯离心管; CARB/NH₂ 固相萃取柱 (500 mg/500 mg/6 ml), Florisil 硅镁固相萃取柱 (1000 mg/6 ml), 杭州福裕科技服务有限公司生产。

1.4 色谱条件

色谱柱: 0.25 mm × 0.25 μm × 30 m, DB-17 毛细管柱; 柱温: 280℃; 汽化室温度: 300℃; 检测器温度: 320℃; 载气 (N₂) 压力: 150 kPa, 流量 30 ml/min。

1.5 样品采集及处理

蔬菜、水果取可食部分约 500 g 磨碎混匀成匀浆, 称取约 15 g 样品放置在 100 ml 带盖的离心管中, 放置冻干机中, 先打开冷冻开关使样品冻成块状后, 打开抽真空开关, 冻干约 18 ~ 24 h 即可, 取出已冻干好的样品, 准确向样品中加入 30 ml 丙酮-二氯甲烷; 此时要盖上离心管盖, 超声 (不加热) 萃取 30 min 或放置浸泡 4 h, 然后放入带冷冻装置高速离心机中 (8000 r/min) 离心 5 min; 准确吸取已离心好的上清液 10 ml 于 10 ml 带塞的比色管中, 吹氮浓缩至 1.0 ml。

1.6 小柱的活化与样品的净化

取 CARB/NH₂ 柱先用 3 ml 丙酮, 再用 3 ml 二氯甲烷淋洗柱子, 弃去洗液, 然后将上述 1.0 ml 浓缩液加到柱子上, 待浓缩液通过柱子后, 再分别用 10 ml 丙酮、10 ml 二氯甲烷洗装浓缩液的比色管后同样加到柱子上, 一起收集洗脱液。洗脱液在 35℃ 旋转蒸发至约 3 ml, 移至 5.0 ml 带塞的刻度管中, 氮气吹干, 加 1.0 ml 正己烷溶解。取 Florisil 柱, 上层加 1.0 g 无水硫酸钠, 先用 5 ml 正己烷淋洗, 然后加入上述 1 ml 正己烷溶液过柱, 先用 5 ml 二氯甲烷-正己烷 (体积比为 5:95) 淋洗除杂质, 再用 10 ml 乙酸乙酯-正己烷 (体积比为 5:95) 洗脱收集, 洗脱液 40℃ 水浴下氮气吹干, 加 1.0 ml 正己烷定容, 待测定。

1.7 测定

采用外标法定性定量。吸取 10 种农药混合标准使用液和试样净化液各 1 μl, 分别重复 3 次进样, 以保留时间定性, 以平均峰面积与相对应的标准品平均峰面积比较定量。在上述色谱条件下, 混标各组分出峰顺序分别为: 三氯杀螨醇 3.149 min; 联苯菊酯 4.977 min; 甲氰菊酯 5.901 min; 氯氟氰菊酯 6.307 min; 氯菊酯 9.312 min, 9.588 min; 氟氯氰菊酯 10.328 min, 10.484 min, 10.745 min; 氯氰菊酯 11.929 min, 12.157 min, 12.521 min; 氟胺氰菊酯 13.771 min, 14.186 min; 氰戊菊酯 16.382 min, 17.529 min; 溴氰菊酯 20.742 min, 22.238 min; 其标准色谱图见图 1, 加标回收色谱图见图 2。

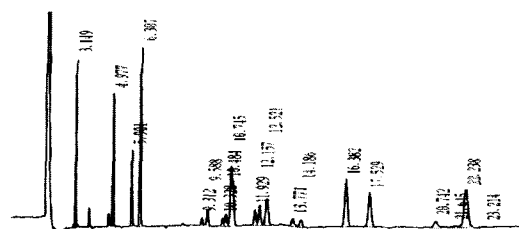


图 1 三氯杀螨醇及 9 种菊酯类农药标准色谱图

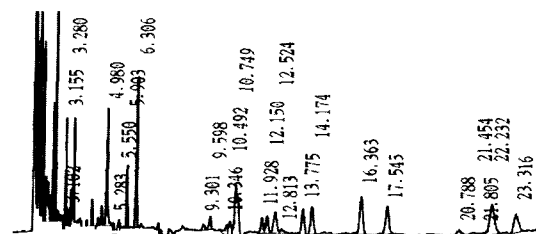


图 2 三氯杀螨醇及 9 种菊酯类农药加标回收色谱图

1.8 计算

果蔬中农药残留量的各组分计算公式:

$$P = \frac{A_x \times C_0 \times V_0 \times V_1}{A_0 \times V_2 \times M}$$

式中:

P—试样中农残组分的残留量, mg/kg

A_x—试样的峰面积, Ve · s

C₀—标样质量浓度, μg/ml

A₀—标样峰面积, Ve · s

V₀—标准进样量, μl

V₁—试样定容体积, ml

V₂—试样进样体积, μl

M—试样质量, g

2 结果与讨论

2.1 色谱柱的选择

在实验中, 选用型号为 DB-1、HP-5、DB-17 口径为 0.25 mm × 0.25 μm × 30 m 的 3 种毛细管柱对 10 种农药进行测定, 结果表明采用 DB-1、HP-5 测定时虽然检测时间较短, 但是对三氯杀螨醇、联苯菊酯和甲氰菊酯农药分离效果不理想, 而采用 DB-17 毛细管柱测定时, 在色谱柱的最高限定温度内尽量提高柱温, 使检测时间缩短, 此时 10 种农药分离效果依然相对较好, 故本方法选择用 DB-17 毛细管柱。

2.2 溶剂的选择

分别用乙腈、丙酮、丙酮-二氯甲烷 (体积比为 1:1) 3 种溶剂对样品的农残进行浸泡提取, 结果表明, 单用乙腈、丙酮提取, 虽然提取率与丙酮-二氯甲烷的提取率无差别, 但用丙酮提取, 本底对结果干扰较严重, 影响提取率。用乙腈提取时, 浓缩所需时间较长, 而且乙腈毒性较大。而采用丙酮-二氯甲烷提取时, 本底对结果干扰较轻, 浓缩时间相对较短, 提取率也较高, 故本方法使用丙酮-二氯甲烷作为提取溶剂。

2.3 固相萃取小柱的选择

样品浓缩液在净化过程中, 曾分别采用如下方法: (a) 只过 Florisil 固相萃取柱; (b) 只过 CARB/NH₂ 固相萃取柱; (c) 先过 Florisil 固相萃取柱, 后过 CARB/NH₂ 固相萃取柱; (d) 先过 CARB/NH₂ 固相萃取柱, 后过 Florisil 固相萃取柱。结果表明, 采用 a 或 b 模式测定本底杂质对结果干扰严重, 影响测定结果; 采用 c 或 d 模式测定, 结果回收率无明显差别。但用 c 模式本底杂质干扰明显多于 d 模式, 故本方法采用 d 模式进行测定。

2.4 线性范围

取 6 支 10 ml 具塞比色管,把 10 种农药的标准使用液以正己烷作为溶剂分别配制成 0.02、0.05、0.10、0.20、0.50、1.00 $\mu\text{g/ml}$ 不同浓度的六个点,以农药标准的浓度为横坐标,所对应的平均峰面积为纵坐标,绘制标准曲线。线性方程及线性范围见表 1。

表 1 10 种农药的线性方程及线性范围

组分	线性方程	r	线性范围 (ng)
三氯杀螨醇	$Y = -1793.39 + 99233.0X$	0.996	0.05 ~ 1.0
联苯菊酯	$Y = 1702.3 + 218719X$	0.998	0.02 ~ 1.0
甲氰菊酯	$Y = 1471.8 + 216595X$	0.998	0.02 ~ 1.0
氯氟氰菊酯	$Y = -1347.7 + 448433X$	0.998	0.02 ~ 1.0
氯菊酯	$Y = 1671.1 + 224113X$	0.999	0.05 ~ 1.0
氟氯氰菊酯	$Y = 1731.2 + 409813X$	0.998	0.02 ~ 1.0
氯氟菊酯	$Y = -874.11 + 394983X$	0.997	0.02 ~ 1.0
氟胺氰菊酯	$Y = -521.1 + 6784561X$	0.9993	0.02 ~ 1.0
氰戊菊酯	$Y = -757.96 + 425322X$	0.997	0.02 ~ 1.0
溴氰菊酯	$Y = -803.51 + 566402X$	0.996	0.02 ~ 1.0

2.5 最小检出浓度

10 种农药最小检出浓度以 3 倍信噪比计算,当称样量为 5.00 g 时,结果分别为:三氯杀螨醇,0.003 mg/kg;联苯菊酯 0.001 mg/kg;甲氰菊酯 0.002 mg/kg;氯氟氰菊酯 0.001 mg/kg;氯菊酯 0.005 mg/kg;氟氯氰菊酯 0.001 mg/kg;氯氟菊酯 0.003 mg/kg;氟胺氰菊酯 0.001 mg/kg;氰戊菊酯 0.002 mg/kg;溴氰菊酯 0.001 mg/kg。

2.6 10 种农药回收率及精密度的测定

称取农残未检出已粉碎好的空心菜样品 15 g 各 5 份,分别加入浓度为 0.05 $\mu\text{g/ml}$ 的 10 种农药混标 1.0 ml,按上述样品的处理及净化步骤进行前处理,并测定。结果见表 2。同样以国标法进行回收率及精密度测定,按国标法进行处理及测定,其测定结果 10 种农药回收率在 50% ~ 85%,精密度范围在 5.0% ~ 18.2%。从回收率及精密度结果来看,该方法明显不如冻干法,其原因是因各种果蔬含水量、含糖量不一样,导致样品前处理无法按统一的模式来控制,从而影响到检测结果。另一种原因是利用冻干法,除去水分同时,也使糖类、盐类物质析出,使杂质干扰变轻,也避免了样品均化、乳化带来的损失,提高了方法的准确度和精密度。

表 2 冻干法测定 10 种农残回收率及精密度 (μg)

农残名称	三氯杀 螨醇	联苯 菊酯	甲氰 菊酯	氯氟 氰菊酯	氯 菊酯	氟氯 氰菊酯	氯 菊酯	氟胺 氰菊酯	氰戊 菊酯	溴 氰菊酯
加标量	0.0500	0.0500	0.0500	0.0500	0.0500	0.0500	0.0500	0.0500	0.0500	0.0500
测定值	1	0.0395	0.0457	0.0459	0.0405	0.0478	0.0395	0.0453	0.0480	0.0405
	2	0.0410	0.0470	0.0453	0.0414	0.0470	0.0390	0.0446	0.0475	0.0410
	3	0.0437	0.0456	0.0425	0.0415	0.0440	0.0405	0.0460	0.0485	0.0420
	4	0.0420	0.0450	0.0440	0.0440	0.0425	0.0420	0.0465	0.0470	0.0431
	5	0.0408	0.0440	0.0465	0.0395	0.0456	0.0410	0.0460	0.0475	0.0425
平均值	0.0414	0.0455	0.0448	0.0414	0.0454	0.0404	0.0457	0.0477	0.0418	0.0442
回收率 (%)	82.8	91.0	89.6	82.8	90.8	80.8	91.4	95.4	83.6	88.4
RSD (%)	3.8	2.4	3.6	4.0	4.8	3.0	1.6	1.2	2.6	1.8

3 小结

样品在过 CARB/ NH_2 柱后,浓缩时一定要把丙酮、二氯甲烷溶剂用氮气吹干,再用正己烷定容至 1.0 ml,然后过 Florisil 柱。若过 Florisil 之前,丙酮、二氯甲烷溶剂没有吹干就用正己烷定容,过 Florisil 柱,结果回收率会偏低。

本文利用冻干技术去除果蔬中的水分,经提取,浓缩,用 CARB/ NH_2 和 Florisil 固相萃取柱净化,采用 0.25 mm $\times$ 0.25 μm $\times$ 30 m, DB-17 毛细管柱测定,各组分分离效果好,结果准确,回收率及精密度高,线性范围宽。该法适用于果蔬中 1 种有机氯及 9 种拟除虫菊酯类农药残留的同时检测,尤其适合大批量农残样品的检测。

[参考文献]

- [1] GB/T5009.110-2003、146-2003. 食品卫生检验方法理化部分[S].
- [2] 蒋定国,方从容,杨大进,等. 测定茶叶中 27 种有机氯和拟除虫菊酯农药多组分残留气相色谱法[J]. 中国食品卫生杂志,2005,17(5):385-389.
- [3] 奉夏平,陈卫国,等. 一种快速测定蔬菜水果中多种有机氯农药的简易新方法[J]. 中国卫生检验杂志,2004,14(6):701-702.
- [4] Moniku Michel, Bofuslaw Buszewski. Optimization of a matrix solid-phase dispersion method for determination analysis of carbendazim residues in plant material[J]. Chromatogr B, 2004, 800:309-314.
- [5] Concha GE, Turnes CML. Optimisation of a programmed split-splitless injector in the gas chromatographic-mass spectrometric determination of organochlorine pesticides[J]. J Chromatogr A, 2002, 958(1-2):17-24.

(收稿日期:2007-09-18)