

# 葡萄酒中 17 种残留农药的固相萃取-气相色谱 / 负化学离子源质谱测定方法研究

蒋宏<sup>1</sup>, 王鹏<sup>1</sup>, 朱龙仙<sup>2</sup>

(1. 建德市质量计量监测中心, 浙江 建德 311600; 2. 金华市质量技术监督院, 浙江 金华 321001)

**摘要:** 建立了葡萄酒中 17 种残留杀虫剂和杀菌剂的气相色谱-负化学离子源质谱(GC-NCI/MS)测定方法。采用 C<sub>18</sub> 固相萃取小柱对葡萄酒中的残留农药进行富集, 进一步完成萃取和净化, 农药经乙酸乙酯洗脱后供 GC-NCI/MS 测定, 采用基质匹配标准溶液外标法定量。验证实验表明, 各农药在 10~200 μg/L 浓度范围内线性关系良好, 该方法定量检测限(S/N>10)为 5~20 μg/L, 在 20 μg/L 和 50 μg/L 处的加标回收率为 70.1%~119.0%, 相对标准偏差为 3.5%~9.4%。该方法前处理简便快速, 所采用的检测技术选择性和灵敏度高, 适合葡萄酒中残留农药的测定, 应用前景广阔。

**关键词:** 葡萄酒; 残留农药; 固相萃取; GC-NCI/MS

中图分类号: TS262.6; TS261.4; TS261.7

文献标识码: A

文章编号: 1001-9286(2012)05-0098-04

## Determination of 17 Kinds of Pesticide Residues in Grape Wine by Solid Phase Extraction-Gas Chromatography/Negative Chemical Ionization Mass Spectrometry

JIANG Hong<sup>1</sup>, WANG Peng<sup>1</sup> and ZHU Longxian<sup>2</sup>

(1. Jiande Quality Measuring and Testing Center, Jiande, Zhejiang 311600; 2. Jinhua Quality & Technology Monitoring Institute, Jinhua, Zhejiang 321001, China)

**Abstract:** A method has been developed for the determination of 17 kinds of pesticide residues in grape wine by solid phase extraction-gas chromatography/negative chemical ionization mass spectrometry (GC-NCI/MS). The pesticide residues in wine samples were extracted and purified by C<sub>18</sub> SPE column, eluted with ethyl acetate and detected with GC-NCI/MS. The quantification was carried out by matrix-matched external standard curve, the calibration curves showed good linearity within the concentrations of 10 to 200 μg/L. The limit of quantification (LOD, S/N>10) were 5~20 μg/L. Recoveries spiked levels of 20 and 50 μg/L ranged from 70.1% to 119.0%, with the relative standard deviation of 3.5%~9.4%. Such method is simple, fast and sensitive, and is suitable for the determination of pesticide residues in grape wine.

**Key words:** grape wine; pesticide residues; solid phase extraction; GC-NCI/MS

葡萄酒是以鲜葡萄或葡萄汁为原料, 经完全或部分发酵酿制而成的且具有一定酒精度的发酵酒。随着人们生活水平和食品安全意识的提高, 葡萄酒的农药残留问题逐渐受到关注<sup>[1]</sup>。我国地域辽阔, 气候条件复杂, 果树的病害种类繁多, 已知的葡萄病害有 30 余种, 危害严重的约 10 余种, 葡萄种植过程中需要经常施用农药。葡萄酒属于葡萄带皮发酵, 在整个加工过程中不会对原料进行清洗或进行其他去除残留农药的工序, 残留在葡萄中的农药最终可能会留在成品酒葡萄酒中, 且葡萄酒属非蒸馏酒, 农药更易残留在成品酒中, 葡萄酒的农药残留问题

是潜在的食品安全隐患。为保证葡萄酒产品的食用安全, 提高我国食品安全监管水平, 保障公民身体健康, 促进葡萄酒产业的发展, 建立葡萄酒中残留风险较大的农药检测方法具有广阔的应用价值。

近年来, 随着葡萄酒农药残留问题日益受到关注, 相关的检测文献也时有报道, 相关测定方法主要有气相色谱法<sup>[2-3]</sup>、气相色谱-电子轰击电离源法(GC-EI/MS)<sup>[4-6]</sup>和液相色谱法<sup>[7]</sup>; 样品前处理方法主要有液液萃取<sup>[3,6]</sup>、液液微萃取<sup>[5]</sup>、固相萃取<sup>[3,5]</sup>、固相微萃取<sup>[1]</sup>、基质分散固相萃取<sup>[2,4]</sup>。在这些测定方法中, 气相和液相法无法提供阳性样

收稿日期: 2012-03-07

作者简介: 蒋宏(1977-), 女, 浙江建德人, 工程师, 本科, 研究方向为食品安全检测。

品确证信息,GC-EI/MS 易受样品基质干扰,需要在样品前处理时进行严格而繁琐的净化过程,选择性和灵敏度差,随着目前标准要求的农药残留量的降低,此法检出限难以满足要求。相对于常用的 EI,NCI 对具有较强电负性的物质(如含有卤素、硫、磷、氮、氧的物质)有高选择性和高灵敏度,电负性愈强,灵敏度愈高。由于多数农药含 S、-Cl、-O、-P=O、-OR 等电负性基团,因此,GC-NCI/MS 可成为此类农药残留的特征分析方法。国内外学者已将 GC-NCI/MS 技术成功地应用于蔬菜水果、茶叶、海产品等食品中农药残留的检测<sup>[8-11]</sup>,证明其在分析电负性物质方面更具优势。在前处理方面,由于葡萄酒是液体,根据农药的性质采用固相萃取、固相微萃取或基质分散固相萃取较为简便,而液液萃取对水溶性较大的农药提取效果不理想。

鉴于我国现行的有关葡萄酒质量安全的标准中并未涉及农药残留的限量规定,本研究根据我国 GB2763—2005《食品中农药最大残留限量》中涉及葡萄的农药残留限量的相关规定以及国外部分国家葡萄酒中最大农药残留限量<sup>[1]</sup>,选取了 17 种残留风险较大的杀虫剂和杀菌剂作为研究对象,采用 C<sub>18</sub> 固相萃取小柱提取净化、GC-NCI/MS 测定了这 17 种农药。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

C<sub>18</sub> 固相萃取柱(1000 mg/6 mL),德国 Macherey-Nagel 公司;乙酸乙酯、甲醇,美国 TEDIA 公司;农药标准储备液(100 μg/mL)农业部环境保护科研监测所。

混合标准储备液:量取 0.5 mL 各种农药标准储备液于 10 mL 容量瓶中,用乙酸乙酯定容溶解,溶液浓度为 5 μg/mL。

葡萄酒:购自当地超市。

### 1.2 设备

气相色谱-质谱仪:配化学电离源,Agilent 6890N-5975B GC-MSD(美国安捷伦公司);纯水发生器:Elix5 型(美国 Millipore 公司);固相萃取装置:美国 Supelco 公司。

### 1.3 方法

#### 1.3.1 样品前处理

取 C<sub>18</sub> 柱,使用前分别用 3 mL 甲醇、3 mL 纯水预淋洗。取 2 mL 葡萄酒,加入到已预淋洗过的 C<sub>18</sub> 柱上,待自然重力过柱后,用 3 mL 水洗涤柱子,真空抽干 5 min,然后用乙酸乙酯洗脱,收集 1 mL 洗脱液于 5 mL 离心管中。收集的洗脱液供气相色谱-负化学离子源质谱测定。

#### 1.3.2 色谱及质谱条件

#### 1.3.2.1 气相色谱

HP-5MS 毛细管柱,30 m×0.25 mm×0.25 μm;柱温:60 °C(1 min) 200 °C(1 min)  $\xrightarrow{15\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}}$  280 °C(7.5 min);载气:氦气,纯度≥99.999%,流速为 1.0 mL/min;进样口温度:260 °C;接口温度:280 °C;进样方式:脉冲不分流,压力为 16.0 psi,持续时间为 0.8 min;进样量:2 μL。

#### 1.3.2.2 质谱

反应气:甲烷,纯度≥99.99%。主要质谱参数:四极杆温度:150 °C;离子源温度:150 °C;发射电流:49.4 μA;电离电压:114.4 eV。每种农药选择 2~3 个离子,其中包括 1 个定量离子,依据农药的保留时间分组检测。农药的保留时间、监测离子参见表 1;各标准物质的总离子流图参见图 1。

表 1 保留时间及选择离子扫描参数

序号	农药	保留时间(min)	监测离子(m/z)
1	百菌清	8.299	<b>266</b> , 264, 268
2	杀螟硫磷	8.910	<b>277</b> , 168, 141
3	马拉硫磷	8.698	<b>157</b> , 159, 172
4	毒死蜱	9.134	<b>313</b> , 315, 214
5	对硫磷	9.150	<b>291</b> , 154, 292
6	三唑酮	9.170	<b>127</b> , 166, 169
7	腐霉利	9.716	<b>283</b> , 285
8	4,4'-DDE	10.219	<b>35</b> , 37
9	腈菌唑	10.287	<b>288</b> , 289, 290
10	虫螨腈	10.464	<b>349</b> , 347, 351
11	4,4'-DDD	10.712	<b>35</b> , 37
12	2,4'-DDT	10.765	<b>35</b> , 37, 71
13	4,4'-DDT	11.148	<b>35</b> , 37, 71
14	甲氧菊酯	11.833	<b>141</b> , 142
15	氯菊酯	13.328, 13.464	<b>207</b> , 209
16	氯氰菊酯	14.459, 14.585, 14.718, 14.747	<b>207</b> , 209, 171
17	氰戊菊酯	16.110, 16.392	<b>211</b> , 213

注:监测离子第一列内斜体加粗的离子为定量离子。

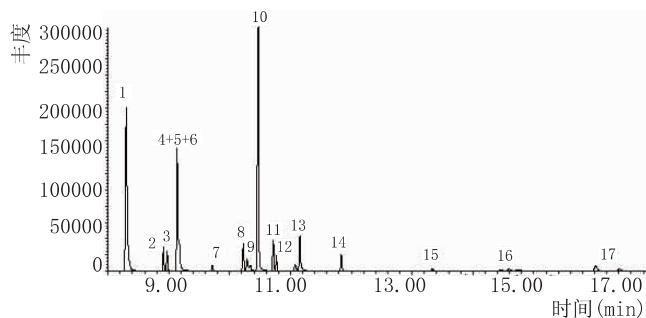


图 1 17 种农药标准品的总离子流图(100 g/L)

## 2 结果与讨论

### 2.1 样品前处理条件的选择与优化

#### 2.1.1 样品处理方法

葡萄酒样品是液体,选择液液萃取提取农药比较繁琐,固相微萃取需要针对不同农药采用相应材料制成的

萃取头,应用性受到限制,而选择合适填料的固相萃取柱进行提取则比较方便。本实验根据目标农药的极性为中等至弱极性,选择 $C_{18}$ 固相萃取小柱进行提取,可将葡萄酒中残留的农药吸附在小柱上。用水淋洗小柱除去水溶性的极性杂质,最后用乙酸乙酯洗脱吸附在小柱上的农药,提取和净化过程一步完成,操作简便快捷。

### 2.1.2 上样量及洗脱溶剂用量的优化

本实验,分别考察了将1 mL、2 mL、3 mL葡萄酒加到小柱上,再各添加100  $\mu\text{g/L}$ 浓度水平的农药,使用2 mL乙酸乙酯洗脱。检测结果显示,当上样量为2 mL时,回收率最高,3 mL时由于柱子过载导致回收率下降,在保证回收率的前提下为使灵敏度尽量提高,本实验选择葡萄酒上样量为2 mL。

在确定上样量为2 mL的前提下,对乙酸乙酯洗脱用量进行了优化。将2 mL葡萄酒加到小柱上,再添加100  $\mu\text{g/L}$ 浓度水平的农药,依次用1 mL乙酸乙酯洗脱收集3份洗脱液。检测结果显示,在2 mL和3 mL洗脱液中检出农药量极少,证明仅需1 mL乙酸乙酯就能洗脱各种农药。

### 2.2 NCI测定方式的选择

样品基质不可能通过前处理完全去除,对农药的检测有较大干扰。使用NCI时,由于其高选择性,对很多杂质没有响应,降低了本底,避免了基质干扰,从而进一步降低方法检出限,同时可减少样品前处理的时间。即使有的农药在EI和NCI下具有相同的响应值,但由于NCI法具有高选择性,实际样品测试时,显示出其明显的优越性。

从标准物质和样品空白谱图对比来看(见图2),本实验选择的17种农药在NCI上具有良好的响应值,而

葡萄酒样品空白在NCI上背景干净,无干扰峰出现,使得方法的测定低限显著降低,可完全满足日常检测需求。

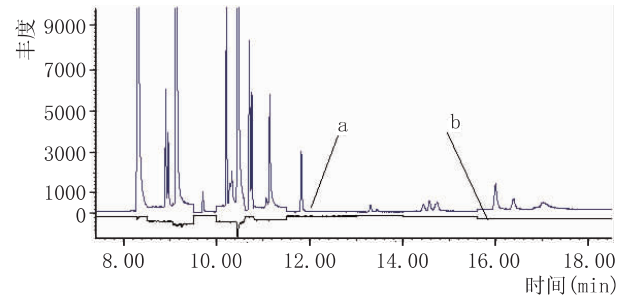


图2 农药基质标准溶液(a)和葡萄酒空白样品基质谱图(b)

### 2.3 线性关系、相关系数、定量限

用乙酸乙酯配制浓度为10  $\mu\text{g/L}$ 、20  $\mu\text{g/L}$ 、50  $\mu\text{g/L}$ 、100  $\mu\text{g/L}$ 、200  $\mu\text{g/L}$ 的系列标准溶液。按1.3.1步骤处理一个空白样品,获得1 mL空白基质液,分成5份各取200  $\mu\text{L}$ 于室温下在氮气流下缓慢蒸干乙酸乙酯;分别各加入200  $\mu\text{L}$ 配制好的5个不同浓度的系列标准溶液,振荡混匀后获得系列基质匹配标准溶液,进样测定。以响应值 $Y$ 为纵坐标,浓度 $X(\mu\text{g/L})$ 为横坐标绘制基质标准曲线,得到各农药的线性方程和相关系数;以信噪比( $S/N$ )大于10且回收率和精密度较好的浓度点确定定量限(LOQ)。具体见表2。

### 2.4 回收率和精密度

阴性葡萄酒样品分别添加20  $\mu\text{g/L}$ 、50  $\mu\text{g/L}$ 两个水平的目标物进行回收率试验,重复测定5次,方法的平均回收率和相对标准偏差(RSD)见表2。

## 3 结论

本研究建立了葡萄酒中17种农药残留的测定方法,

表2 方法的线性范围、定量检测限、加标回收率和精密度

农药	回收率(%)		RSD(%)		线性方程 10~200 $\mu\text{g/L}$	相关 系数	定量限 ( $\mu\text{g/L}$ )
	20 $\mu\text{g/L}$	50 $\mu\text{g/L}$	20 $\mu\text{g/L}$	50 $\mu\text{g/L}$			
百菌清	84	100.7	5.9	5.9	$Y = 12430X - 4130$	0.9998	5
杀螟硫磷	93.3	106.6	2.9	4.1	$Y = 2304X - 5378$	0.9998	10
马拉硫磷	80.8	108.9	4.9	4.3	$Y = 1199X - 1136$	0.9996	10
毒死蜱	71.7	87.7	5.4	5.2	$Y = 6124X - 6702$	0.9997	10
对硫磷	81.4	92.2	6	4.9	$Y = 1827X - 1325$	0.9998	10
三唑酮	90.5	113.3	5.5	3.2	$Y = 1305X - 2845$	0.9999	10
腐霉利	77.1	87.6	7.6	6.9	$Y = 339.1X - 594.5$	0.9970	20
4,4'-DDE	70.1	80.8	6.2	7.3	$Y = 2656X - 3936$	0.9999	10
腈菌唑	119	108.7	7.5	6.8	$Y = 930.2X - 4846$	0.9985	10
虫螨腈	74.3	97.7	6.1	6.4	$Y = 15150X - 24120$	0.9999	5
4,4'-DDD	72.5	88.3	7.1	4.7	$Y = 2455X - 2089$	0.9999	10
2,4'-DDT	73.2	104.3	4.8	8.3	$Y = 2531X - 16260$	0.9999	10
4,4'-DDT	71.2	96.6	9.4	6.1	$Y = 1670X - 8773$	0.9999	10
甲氰菊酯	79.1	93.2	4.4	3.5	$Y = 1474X - 2146$	0.9999	10
氯菊酯	78.9	87.6	8.4	6.6	$Y = 179.2X - 292.1$	0.9995	20
氰氟菊酯	83.3	97.1	6.8	5.2	$Y = 616.9X - 7.323$	0.9983	10
氰戊菊酯	83.9	94	5.3	3.9	$Y = 1315X - 837.9$	0.9996	10

采用 C<sub>18</sub> 固相萃取柱富集和净化,样品前处理简便快捷,采用气相色谱-负化学离子源质谱法测定,选择性和灵敏度大大提高,方法的回收率、精密度、定量检测限等指标均达到残留分析要求。本方法前处理简便快速,测定灵敏度高,适合于葡萄酒残留农药的日常检测,可用于对进出口葡萄酒中残留农药的测定。

#### 参考文献:

- [1] 王亚钦,许建军,石英,等.设立葡萄酒农残限量的必要性和可行性分析[J].中外葡萄与葡萄酒,2011(3):76-80.
- [2] 胡媛,刘文民,周艳明,等.固相微萃取-气相色谱法测定红葡萄酒中残留的有机磷农药[J].色谱,2006,24(5):290-293.
- [3] 朱学良,戚向阳,岳晶念,等.基质固相分散萃取气相色谱电子捕获检测器测定葡萄酒中5种农药残留[J].分析化学,2007,35(2):259-260.
- [4] 陈晶,苏建峰,张光军,等.固相萃取气相色谱-质谱法测定葡萄酒中118种农药残留量[J].理化检验-化学分册,2007,47(4):449-452.
- [5] 任晓燕,谢勇,唐宗贵,等.基质固相分散气相色谱-质谱联用检

测葡萄酒中9种有机磷农药残留[J].农产品加工学刊,2010(4):66-68.

- [6] 王金芳,栾鸾,王正全,等.微液液提取或固相萃取法净化、气相色谱-质谱联用测定葡萄酒中19种农药多残留[J].色谱,2007,35(10):449-452.
- [7] 淑英,王华.高效液相色谱法测定葡萄酒中多菌灵的残留量[J].酿酒科技,2006(2):94-96.
- [8] 董静,潘玉香,秦亚萍,等.程序升温大体积进样气相色谱-负化学离子源质谱法测定白菜和苹果中103种农药残留[J].色谱,2010,28(7):654-663.
- [9] 桂建业,张莉,刘继华,等.固相萃取衍生气相色谱-负化学源质谱法检测水中酸性除草剂[J].分析化学,2010,38(8):1177-1181.
- [10] 胡贝贞,沈国军,邵铁峰,等.加速溶剂萃取-气相色谱-负化学源质谱法测定茶叶中有机氯和拟除虫菊酯类农药残留量[J].分析实验室,2009,28(1):80-83.
- [11] 林竹光,张莉莉,孙若男,等.海产品中九种多溴联苯醚残留的气相色谱-负化学离子源/质谱法分析[J].分析实验室,2008,24(5):512-516.

(上接第97页)

的滴定结果跟该样品总酸测定的结果颜色最为接近。综合各方面因素,最后确定直接电位滴定法的终点 pH 值设定为 9。结果详见表 1。

#### 2.2 电位滴定法和指示剂法的比较

直接电位滴定法和国标指示剂法的实验结果均满足方法精密度( $\leq 5\%$ )的要求。结果表明,这两种不同方法测定的样品 A、样品 B、样品 C、样品 D 白兰地 4 个样品的酯类含量的测定值有着显著的差别,结果见表 1。

### 3 结论

3.1 张裕白兰地不同级别的酒样中,不挥发酯类含量随级别升高而增大,这与白酒标准中不同级别的总酯含量一一相关。这应是酒在陈酿过程中,橡木桶中的一些脂溶性、水溶性物质迁移至酒中,构成了酒的独特风味。

3.2 从直接电位滴定法和国标指示剂法测定酯类含量的结果看,直接电位滴定法测定值与国标指示剂法结果相差较大。国标指示剂法测定的应属沸点低、分子量小、极性小的酯类化合物,仅为酒样中的一部分酯类物质,而

直接电位滴定法则是对样品中所有酯类物质进行测定。从结果分析白兰地中可能含有一些不易挥发、极性大或分子量大、在碱性条件下又能水解出一些类似酸性的酯类物质,从而使得实验结果差异偏大。由此结果可知,白兰地中含有一些能干扰酯类测定结果的物质的存在,故本实验对这些物质的研究有一定的启发意义。

3.3 近十年来,出现了顶空-气相色谱法分析挥发性化合物,其特点是通过对密闭样品加热,吸取上部气体样品进行色谱分析,与国标的方法有异曲同工之处;同时此法具有不用样品前处理,样品量少,分析时间短等优点。因此,考虑可以采取顶空-气相色谱法来进一步摸索直接测量白兰地酯类含量的方法以满足白兰地国家标准对酯类物质的测定。

#### 参考文献:

- [1] 中华人民共和国卫生部和国家标准化委员会, GB/T 10345—2006 白酒分析方法[S].北京:中国标准出版社,2007.
- [2] 中华人民共和国卫生部和国家标准化委员会, GB/T 11856—2008 白兰地[S].北京:中国标准出版社,2008.

## 2011 青岛啤酒营业收入 231.58 亿元

本刊讯 据《华夏酒报》报道,2012年3月29日,青岛啤酒股份有限公司公布2011年年度报告,报告期内,公司实现营业收入231.58亿元,同比增长16.38%;实现归属于公司股东的净利润17.38亿元,同比增长14.30%。

青岛啤酒表示,公司去年经营业绩的持续较快增长,全年实现啤酒销量715万千升,同比增长12.6%;实现营业收入231.58亿元,同比增长16.38%。(卓越文,小小荐)

来源:华夏酒报 2012-4-13