

凝胶色谱净化/气相色谱法测定鳗鱼中多种有机磷农药残留量

段建发, 林隆强, 林文华, 史佳虹, 林超
(汕头出入境检验检疫局, 广东汕头 515031)

摘要: 建立了凝胶色谱技术(GPC)净化, 用气相色谱法测定水产品鳗鱼中11种有机磷农药残留量的方法。样品用乙酸乙酯/环己烷溶液(1+1, V/V)超声提取, GPC净化, 收集所需流分, 浓缩近干后用乙酸乙酯溶解定容, 气相色谱分析。方法检测限(LOQ)为0.01~0.02 mg/kg, 方法回收率为76.3%~106.8%, 相对标准偏差(RSD)为2.3%~15.8%。结果表明, 该方法操作简便快速、灵敏度高, 符合实际应用需要。

关键词: 有机磷农药; 凝胶色谱; 气相色谱; 鳗鱼

文章编号: 1673-9078(2012)10-1400-1402

Determination of Organophosphorus Pesticide Multi-residues in Eel by Gas Chromatography with Gel Permeation Chromatography Clean-up

DUAN Jian-fa, LIN Long-qiang, LIN Wen-hua, SHI Jia-hong, LIN Chao
(Shantou Entry-exit Inspection and Quarantine Bureau, Shantou 515031, China)

Abstract: A method was developed for determining of 11 organophosphorus pesticide residues in eel by Gas Chromatography (GC) with Gel Permeation Chromatography (GPC) clean-up. The samples were extracted using the solution of ethyl acetate and cyclohexane (1+1, V/V) with ultrasonic machine and then cleaned up by GPC. The elution needed was collected and concentrated to nearly dryness. The residue was dissolved with ethyl acetate for determination by GC-FPD. The limit of quantification (LOQ) was 0.01~0.02 mg/kg. The recovery ranges were 76.3%~106.8% when the added levels were from 0.02 mg/kg to 1.0 mg/kg. The relative standard deviations (RSD) were 2.6%~13.8%. The method was simple, sensitive and suitable for the analysis of pesticide residues.

Key words: organophosphorus pesticide; GPC; gas chromatography; eel

有机磷农药作为一种高效、广谱的杀虫剂, 在蔬菜水果中得到广泛应用, 但其急性毒性强, 在蔬菜水果中的残留易引起食物中毒^[1-2], 此外农药还可以通过环境迁移和食物链富集在鱼、禽、畜等动物体内, 使农药污染更为严重, 并对人类健康造成潜在威胁。农业部2007年1月1日起全面禁止甲胺磷、对硫磷、甲基对硫磷、久效磷和磷胺等5种高毒有机磷农药在农业上的使用。目前对有机磷农药残留检测方法的研究主要集中在植物源性食品, 通过使用气相色谱(GC)^[3-6]、气相色谱-质谱联用(GC-MS)^[7-8]和液相色谱-串联质谱法(LC-MS/MS)^[9-10]实现了对多种有机磷农药残留的测定; 而对动物源性食品中的有机磷残留测定的报道较少^[11-13]。水产品体内由于富含油脂类物质, 常规提取方法通常较复杂且效果不理想。因此有必要找到一个

样品前处理简便、净化去脂效果好、快速且准确的测定方法。凝胶色谱技术(GPC)是以多孔凝胶为固定相, 利用凝胶孔的空间尺寸效应, 使不同大小的分子按照由大到小的洗脱顺序达到分离的HPLC方法, 生物大分子物质因为分子量比农药分子大而先洗脱出来, 从而解决此难题。此外, 凝胶色谱还有因为惰性微球表面对有机物吸附小所以柱污染小, 以及脱盐等优点。本文采用凝胶色谱技术进行净化处理, 建立了气相色谱法同时测定水产品鳗鱼中11种常见有机磷农药残留量的方法。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

仪器主要有6890N气相色谱仪(美国Agilent公司), 配火焰光度检测器(FPD); AccuPrep™自动凝胶色谱仪(美国J2 Scientific公司); C9860A超声波清洗仪(CBL Photoelectron TECHNOLOGY); 5810R离心

收稿日期: 2012-05-31

基金项目: 广东省科技厅科研计划项目(2008B021800009)

作者简介: 段建发(1979-), 男, 博士, 主要从事食品理化检验研究

机(德国Eppendorf公司); T18涡旋混匀器(德国IKA公司); LR4000旋转蒸发仪(德国Heidolph公司)。

11种有机磷农药(敌敌畏、甲胺磷、乙酰甲胺磷、甲拌磷、氧化乐果、乐果、毒死蜱、甲基对硫磷、马拉硫磷、杀螟硫磷、三唑磷)标准品购自德国Dr. Ehrenstorfer公司,纯度大于98%。乙酸乙酯、环己烷均为分析纯重蒸;水为蒸馏水;氯化钠为分析纯。

1.2 凝胶色谱净化条件

凝胶色谱柱: Bio Beads S-X3 (200~400目), 柱床高26~27 cm, 内径2.5 cm; 检测波长: 254 nm; 流动相: 乙酸乙酯+环己烷(1+1, 体积比); 流速: 4.7 mL/min; 样品定样环: 5.0 mL; 开始收集时间: 8 min; 结束收集时间: 15 min。

1.3 气相色谱条件:

色谱柱: DB1701 (30 m×0.53 mm×1.0 μm); 色谱柱温度: 140 °C (保持2 min), 10 °C/min升至200 °C, 2 °C/min升至254 °C; 检测器温度: 250 °C; 进样口温度: 250 °C; 载气: 99.999%高纯氮气, 流速5.0 mL/min; 空气: 15 mL/min; 氢气75 mL/min; 尾吹气: 15 mL/min; 进样量: 2 μL; 定量方法: 峰面积外标法定量。

1.4 测定步骤

称取5.0 g绞碎样品于50 mL塑料管中, 加入氯化钠5 g, 再加入25 mL乙酸乙酯+环己烷(1+1)溶剂, 盖紧在混匀器上充分混匀2 min, 超声提取15 min, 摇床震荡10 min。再以4000 r/min的速率离心5 min, 取出10 mL上清液待净化。5 mL样品通过样品定量环注入GPC柱, 泵流速4.7 mL/min, 弃去0~8 min 流分, 收集8~15 min流分, 15~22 min冲洗GPC柱。将收集的流分于45 °C水浴中旋转蒸发浓缩至约1 mL, 用氮气吹至近干, 以乙酸乙酯定容至1.0 mL, 供气相色谱分析。农药的标准品色谱图见图1。

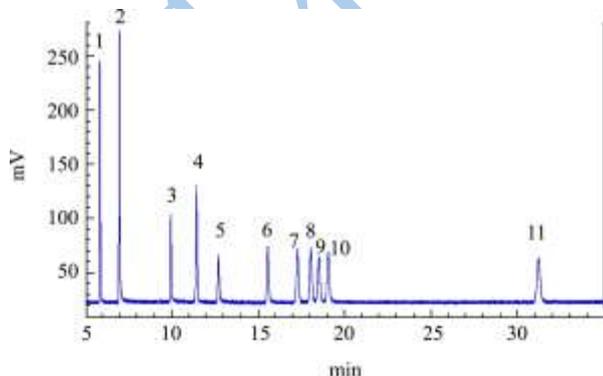


图1 11种有机磷农药的气相色谱图

Fig.1 Gas chromatography of 11 organic phosphorus pesticides

注: 1-敌敌畏、2-甲胺磷、3-乙酰甲胺磷、4-甲拌磷、5-氧化乐果、6-乐果、7-毒死蜱、8-甲基对硫磷、9-马拉硫磷、10-杀螟硫磷、11-三唑磷。

2 结果与讨论

2.1 凝胶色谱流分收集时间的选择

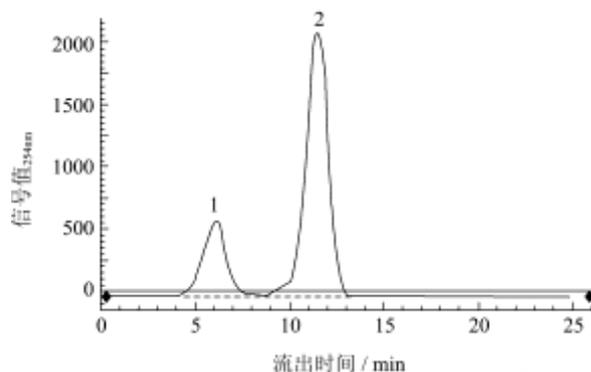


图2 有机磷农药混标的凝胶色谱流出色谱图

Fig.2 GPC Chromatography of organophosphorus pesticide residues

注: 1-生物大分子、2-有机磷农药。

样品运行前, 须对凝胶色谱流分收集时间进行确认。在提取液中加入有机磷农药混标进行凝胶色谱净化处理, 记录全过程中流分在254 nm的吸收信号值, 见图2。峰1为先流出的生物大分子流出峰, 峰2为有机磷农药流出峰, 干扰测定试验的生物大分子和有机磷农药残留能有效分离。由流出色谱图可知, 试验选取收集8~15 min的流分来进行后续测定。

2.2 方法线性范围与测定下限

表1 方法线性范围与测定下限

Table 1 The Linear range and LOQ of the method

农药	保留时间/min	线性回归方程	相关系数(r)	测定下限(mg/kg)
敌敌畏	5.877	$Y=3.368 \times 10^3 X+13.75$	0.99922	0.01
甲胺磷	6.997	$Y=4.122 \times 10^3 X-12.36$	0.99988	0.01
乙酰甲胺磷	9.942	$Y=1.717 \times 10^3 X-2.554$	0.99996	0.01
甲拌磷	11.430	$Y=2.942 \times 10^3 X+14.10$	0.99944	0.01
氧化乐果	12.691	$Y=1.415 \times 10^3 X-13.48$	0.99918	0.02
乐果	15.545	$Y=1.996 \times 10^3 X+2.488$	0.99979	0.02
毒死蜱	17.271	$Y=2.222 \times 10^3 X+17.64$	0.99771	0.02
甲基对硫磷	18.032	$Y=2.326 \times 10^3 X+3.220$	0.99767	0.02
马拉硫磷	18.500	$Y=1.987 \times 10^3 X+8.062$	0.99834	0.02
杀螟硫磷	19.034	$Y=2.192 \times 10^3 X-8.372$	0.99564	0.02
三唑磷	31.198	$Y=2.706 \times 10^3 X-1.034$	0.99991	0.02

分别准确吸取一定量的标准溶液, 用乙酸乙酯配制成一系列标准混合溶液, 浓度在0.01~1.00 mg/L之间, 在上述色谱条件下用气相色谱仪进行分析, 以峰面积对质量浓度作线性回归分析, 结果见表1。根据信噪比(S/N)≥10来确定方法检测限。由表1可见, 该方法灵敏度高, 线性良好, 符合农药残留分析的要求。

2.3 回收率与精密度试验

表2 方法回收率与精密度 (n=6)

Table 2 The recovery and precision of the method (n=6)

农药	加入量(mg/kg)	平均回收率/%	RSD/%
敌敌畏	0.020	82.9	10.6
	0.100	81.3	9.2
	1.00	88.9	6.4
甲胺磷	0.020	84.8	7.8
	0.100	89.4	5.9
	1.00	98.6	10.4
乙酰甲胺磷	0.020	76.3	13.8
	0.100	84.3	8.9
	1.00	86.8	8.2
甲拌磷	0.020	106.8	13.2
	0.100	98.4	6.4
	1.00	97.8	2.6
氧化乐果	0.020	77.4	11.3
	0.100	79.6	8.7
	1.00	80.9	6.9
乐果	0.020	87.6	5.7
	0.100	90.2	7.5
	1.00	96.6	3.1
毒死蜱	0.020	98.3	8.8
	0.100	104.5	12.5
	1.00	101.8	7.3
甲基对硫磷	0.020	95.3	10.2
	0.100	94.1	7.2
	1.00	97.7	3.8
马拉硫磷	0.020	87.3	7.6
	0.100	95.7	5.9
	1.00	93.5	4.5
杀螟硫磷	0.020	90.8	9.4
	0.100	98.6	9.0
	1.00	94.6	6.7
三唑磷	0.020	82.7	7.2
	0.100	86.6	6.1
	1.00	88.9	5.4

取检测为阴性的水产品 在 0.020、0.100、1.00 mg/kg 三个浓度水平进行添加回收试验, 平行测定 6

次, 测定结果见表 2。方法的平均回收率为 76.3%~106.8%, 相对标准偏差为 2.6%~13.8%。

3 结论

采用简洁的溶剂提取技术, 利用凝胶色谱净化技术, 建立了一种快速测定水产品鳗鱼中11种有机磷的检测方法。结果表明该方法具有分离效果好, 准确度高, 操作简便快速的特点, 能够很好地适用于水产品中的有机磷农药残留检测。自2008年以来已应用本方法对粤东地区进出口水产品中近300批次样品的多种有机磷农药残留量进行检测, 为水产品中有机磷类农药残留的检测与监管提供可靠的技术依据。

参考文献

- [1] 顾晓军,田素芬.农药的负面效应: 过去、现状及展望[J].福建农林大学学报:自然科学版,2001,30(1):80-83
- [2] 余以刚,卢志洪,朱珍,等.广州市售蔬菜有机磷农药残留情况调查分析[J].现代食品科技,2010,26(7):742-745
- [3] GB/T 5009.20-2003 食品中有机磷农药残留量的测定[S]
- [4] GB/T 5009.103-2003 植物性食品中甲胺磷和乙酰甲胺磷农药残留量的测定[S]
- [5] SN/T 0148-2011 进出口水果蔬菜中有机磷农药残留量检测方法 气相色谱和气相色谱-质谱法[S]
- [6] 陈守忠.有机磷农药多残留气相色谱分析研究[J].福建分析测试,2008,17(1):36-39
- [7] 吴岩,康庆贺,高凯扬,等.气相色谱/质谱法测定板栗中44种有机磷农药残留[J].分析化学,2009,37(5):753-757
- [8] 钱宗耀,刘河疆,王建梅,等.气质联用检测蔬菜和水果中30种有机磷农药残留[J].现代仪器,2011,17(6):79-82
- [9] 刘莹雯,丁时超,杜文,等.串联质谱法测定烟草中有机磷农药的残留量[J].色谱,2006,24(2):174-176
- [10] 徐远金,李永库.电喷雾质谱联用法测定蔬菜中7种有机磷农药残留量[J].分析测试学报,2006,25(4):6-40
- [11] GB/T 5009.161-2008 动物性食品中有机磷农药多组分残留量的测定[S]
- [12] 苏建峰.猪肉中63种有机磷农药的气相色谱筛选与气质联用确证方法[J].分析测试学报,2008,27(12):1298-1302
- [13] 赵秋香,郑志雯,张峥,等.气相色谱法测定鱼和肉中有机磷农药残留量[J].理化检验-化学分册,2004,40(3):150-152