

气相色谱法测定坚果中8种拟除虫菊酯农药残留

廖和菁*, 胡礼渊, 刘瑞芳, 梁东军

(广西东兴出入境检验检疫局, 广西 东兴 538100)

摘要:建立了东盟进口坚果夏威夷果、开心果、杏仁中8种拟除虫菊酯农药残留的检测方法。样品采用乙腈作萃取溶剂超声波提取,经中性氧化铝串联弗罗里硅土小柱净化,组分经不同极性的两根毛细管柱进行分离,采用气相色谱法以ECD检测器检测坚果中8种拟除虫菊酯农药。该方法在0.01~1.0 μg/mL浓度范围内具有良好的线性关系,相关系数为0.999 2~0.999 9;在农药添加浓度为10, 20, 50 μg/kg时,回收率为71%~115%,相对标准偏差为4.5%~9.8%,检出限(LOD, S/N=3)为0.014~0.28 μg/kg,定量下限(LOQ, S/N=10)为0.047~0.94 μg/kg。该方法分离效果好,准确可靠,回收率高,方便快捷,可用于坚果中农药残留的日常检测。

关键词:气相色谱法(GC);拟除虫菊酯类农药;夏威夷果;开心果;杏仁

中图分类号:O657.71;F767.2 文献标识码:A 文章编号:1004-4957(2017)05-0669-05

Determination of 8 Pyrethroid Pesticide Residues in Nuts by Gas Chromatography

LIAO He-jing*, HU Li-yuan, LIU Rui-fang, LIANG Dong-jun

(Guangxi Import and Export Inspection and Quarantine Bureau, Dongxing 538100, China)

Abstract: An analytical method was developed for the determination of 8 pyrethroid pesticide residues in nuts (hawaii nuts, pigeon nuts, almonds imported from ASEAN). The samples were extracted with acetonitrile by ultrasonic technique, purified with Alumina - N SPE and Florisil SPE. The components were separated with two different polarity capillary columns, and 8 kinds of pyrethroid pesticide residues were detected by GC with ECD detector. The linear range of the method was in the range of 0.01 - 1.0 μg/mL ($r = 0.999\ 2 - 0.999\ 9$). The recoveries at three spiked concentrations of 10, 20, 50 μg/kg were in the range of 71% - 115%, with relative standard deviations (RSD) of 4.5% - 9.8%. The limits of detection (LOD, $S/N = 3$) were in the range of 0.014 - 0.28 μg/kg. The limits of quantitation (LOQ, $S/N = 10$) were in the range of 0.047 - 0.94 μg/kg. The established method has the advantages of good separation, high accuracy, high recovery, convenience and rapidness, and could be used for the routine analysis of pesticide residues in nuts.

Key words: gas chromatography (GC); pyrethroid pesticide; Hawaii nuts; pigeon nuts; almonds

随着中国-东盟自贸区的建成,中国-东盟双方农产品贸易日益活跃。坚果是东盟国家主要的农产品之一,主要有夏威夷果、开心果、杏仁、腰果等,因坚果富含不饱和脂肪酸、氨基酸、维生素、微量元素和多种抗氧化剂^[1],具有健胃、补脑、预防疾病等多种功效,常被人们当作保健品食用^[2]。然而,东盟国家农业生产管理技术水平普遍不高,相关部门对混乱的农药市场缺乏有效的监督和控制,大量其他国家早已禁用的产品仍在市面上流通,且使用量惊人。农药的广泛使用造成了坚果中的农药残留。国际食品法典委员会(CAC)、美国等国家或组织均对坚果中的农药规定了最大残留限量(MRLs),其中规定坚果中MRLs的农药种类有299种^[3],并涉及所有常见的坚果种类。在我国登记注册的农药约3000种,其中杀虫剂占农药登记的33%左右,东盟国家作物病虫害与我国相似,用药类型也类似。拟除虫菊酯类农药是模拟天然除虫菊素由人工合成的一类杀虫剂,由于其杀虫谱广、效果好、低残留、无蓄积作用等优点^[4],是近30年来广泛使用的一大类农药。

目前,国内外农药残留的检测研究主要针对水果、蔬菜、茶叶、粮食等,对坚果中农药残留的检测报道较少,坚果中农药残留的检测主要采用气相色谱法^[5-6]、液相色谱法^[7]、气相色谱-质谱

法^[8-9]、液相色谱-质谱法等^[10-11]。由于ECD检测器对拟除虫菊酯类农药的检测灵敏度很高,同时气相色谱仪在基层实验室较为普及。故本文采用气相色谱法,选择8种有限量要求的拟除虫菊酯类农药,以东盟进口的夏威夷果、开心果、杏仁为研究对象,选用乙腈作为萃取溶剂,并采用超声波技术萃取样品,缩短了前处理时间。中性氧化铝串联弗罗里硅土小柱对杂质的净化效果明显,洗脱溶剂用量少,经HP-5弱极性柱石英毛细管柱分离后用气相色谱ECD检测器测定,阳性样品再经DB-17中等极性石英毛细管柱进行确认。结果证明该方法准确可靠、检出限低、分离效果好、回收率高,是一种方便、快速的检测方法。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

7890A气相色谱仪(配有ECD检测器,美国Agilent公司),旋涡振荡器(江苏海门其林贝尔仪器制造有限公司),多功能振荡器(日本Yamato),旋转蒸发仪,台式离心机,超声波清洗仪。

乙腈、丙酮、正己烷均为色谱纯,无水硫酸钠(使用前650℃,烘烤4h);Alumina-N固相萃取小柱(500 mg/6 mL),Florisil固相萃取小柱(1 000 mg/6 mL),GCB/NH₂固相萃取小柱(500 mg/500 mg, 6 mL)均为CNW公司产品。联苯菊酯、甲氰菊酯、三氯氟氰菊酯、氯菊酯、氟氯氰菊酯、氯氰菊酯、氰戊菊酯、溴氰菊酯均从国家标准物质中心购买,浓度为100 μg/mL。

1.2 实验方法

1.2.1 色谱条件 采用HP-5弱极性石英毛细管柱和DB-17中等极性石英毛细管柱分别对8种拟除虫菊酯类农药进行分离。色谱条件为:

色谱柱1:HP-5(30 m×0.32 mm×0.25 μm),进样口温度270℃;检测器温度325℃;恒流模式,柱流量2.0 mL/min。升温程序:70℃保持1 min,以20℃/min速率升至270℃保持1 min,以1℃/min速率升至285℃保持41 min,再以20℃/min速率升至300℃保持15 min。进样量1 μL,不分流进样,外标法定量。

色谱柱2:DB-17(30 m×0.32 mm×0.25 μm),进样口温度250℃;检测器温度280℃;恒流模式,柱流量2.5 mL/min。升温程序:60℃保持1 min,以20℃/min速率升至230℃保持3 min,以15℃/min速率升至270℃保持15 min,进样量1 μL,不分流进样,外标法定量。

1.2.2 8种拟除虫菊酯混标的线性方程 从浓度为100 μg/mL的8种拟除虫菊酯标准品中分别吸取100 μL标准溶液注入到10 mL容量瓶中,用正己烷稀释至刻度,配制成1 μg/mL的农药混合标准储备液,临用前分别稀释成0.01, 0.02, 0.05, 0.1, 0.2, 0.5, 1.0 μg/mL 7个浓度的拟除虫菊酯混合标样,进气相色谱分析,以峰面积作为纵坐标,质量浓度作为横坐标进行线性回归。

1.2.3 样品前处理 样品提取:将夏威夷果、开心果、核桃、杏仁剥壳后,取可食部分制成粉末状后,称取5 g(精确至0.01 g)试样置于50 mL离心管中,加入20 mL乙腈,旋涡混匀1 min,超声波提取10 min后,置于离心机中以5 000 r/min离心5 min,取上清液于100 mL茄形瓶中,残渣再加入10 mL乙腈提取1次,合并2次提取液。在40℃下水浴减压浓缩至约1 mL,待净化。

净化:取中性氧化铝柱串联Florisil固相萃取小柱,各加入1 cm高的无水硫酸钠,用10 mL乙腈预淋洗柱子,将待净化的1 mL样液加至柱上。用2 mL乙腈洗涤茄形瓶,将清洗液同样加至柱上,重复2次。再用25 mL乙腈淋洗柱子,收集洗脱液,40℃水浴旋转蒸发浓缩至近干,将剩余溶液转移至15 mL离心管中,并用适量乙腈多次冲洗茄形瓶,合并冲洗液于15 mL离心管中,用氮吹仪吹干后,加1 mL正己烷制成分析液,用于气相色谱仪测定,先采用HP-5色谱柱进行分离,阳性样品再经DB-17进行确认。

2 结果与讨论

2.1 提取溶剂的选择

农药残留的提取溶剂一般为乙腈^[12]、正己烷^[13]和丙酮^[14],本文选取乙腈、正己烷和丙酮作为提取溶剂。实验中发现,采用正己烷为提取溶剂浓缩后呈浅黄色粘稠状液体,选用丙酮作提取溶剂浓缩

后呈红褐色粘稠状液体, 易堵塞 SPE 小柱, 而采用乙腈提取时, 溶液色素少且易过柱, 因此本实验选用乙腈作为提取剂。

2.2 SPE 固相萃取小柱的选择

SPE 固相萃取小柱能够去除脂肪酸含量高的样品基质, 通常采用 Florisil, Alumina - N, NH₂, GCB 能够去除大部分杂质, 但不能去除所有的脂肪酸。综合以上固相萃取柱的优缺点, 选择 Alumina - N 串联 Florisil 柱和 GCB/NH₂ 固相萃取小柱, 对 8 种拟除虫菊酯混标进行回收实验。实验结果显示, 采用 Alumina - N 串联 Florisil 柱时, 8 种目标物的回收率为 95% ~ 111%, 而采用 GCB/NH₂ 固相萃取小柱时的回收率为 60% ~ 120%, 因此最终选择 Alumina - N 与 Florisil 柱串联对溶液进行净化。

2.3 洗脱溶剂的选择

用 Alumina - N 串联 Florisil 柱, 对比了乙腈 - 甲苯(3 : 1) 和乙腈两种溶剂的洗脱净化效果, 发现乙腈的效果优于乙腈 - 甲苯(3 : 1), 这是因为甲苯和油脂均为非极性物质, 能够将已经吸附的油脂洗脱下来, 故选择乙腈为洗脱溶剂。同时对乙腈的洗脱体积进行了研究, 发现洗脱体积为 25 mL 时, 回收率无较大提高。综合考虑, 选择 25 mL 乙腈洗脱。

2.4 色谱柱的选择

分别采用 HP - 5 柱和 DB - 5 两种色谱柱对 8 种浓度为 0.01 μg/mL 的拟除虫菊酯混合标准溶液进行测定。结果显示, 8 种拟除虫菊酯均得到了较好的分离, 但采用 HP - 5 柱时所有化合物在 18.683 min 内出峰完全, 而在 DB - 17 柱需 26.393 min 出峰完全, 在出峰效率上, HP - 5 色谱柱优于 DB - 17 柱。因此, 后续实验采用 HP - 5 色谱柱对待测物进行分离。

2.5 线性关系与检出限

采用 HP - 5 中等极性柱为色谱分离柱, 按照“1.2.2”方法考察了 8 种拟除虫菊酯农药的线性关系。结果显示, 8 种农药在 0.01 ~ 1.0 μg/mL 范围内呈良好的线性关系, 相关系数(*r*) 为 0.999 2 ~ 0.999 9。本文以信噪比 *S/N* = 3 确定方法的检出限(LOD), *S/N* = 10 确定方法的定量下限(LOQ)。结果表明, 8 种拟除虫菊酯在坚果中的检出限为 0.014 ~ 0.28 μg/kg, 定量下限 0.047 ~ 0.94 μg/kg, 均低于 CAC 中 MRLs, 结果见表 1。

表 1 8 种拟除虫菊酯农药的线性关系、检出限及定量下限

Table 1 Linear correlations, detection limits and quantitation limits of 8 pyrethroid pesticide residues

Pesticide	Correlation coefficient(<i>r</i>)	LOD(μg/kg)	LOQ(μg/kg)	MRL(μg/kg)
Bifenthrin(联苯菊酯)	0.999 9	0.025	0.084	100
Fenpropathrin(甲氰菊酯)	0.999 7	0.024	0.081	15
Cyhalothrin(三氟氯氰菊酯)	0.999 7	0.014	0.047	50
Permethrin(氯菊酯)	0.999 9	0.15	0.94	50
Cyfluthrin(氟氯氰菊酯)	0.999 2	0.23	0.78	500
Cypermethrin(氯氰菊酯)	0.999 4	0.28	0.92	50
Fenvalerate(氰戊菊酯)	0.999 5	0.15	0.52	100
Deltamethrin(溴氰菊酯)	0.999 4	0.033	0.11	20

采用 HP - 5 中等极性柱为色谱分离柱, 选取夏威夷果、开心果、杏仁 3 种空白粉末样品, 分别添加 3 种不同水平的拟除虫菊酯混标, 静置 30 min, 待农药充分吸收后, 按照“1.2.3”方法进行样品处理并做加标回收试验, 每个水平重复 6 次。图 1 为杏仁空白样品及杏仁空白加标样品的色谱图, 加标浓度为 20 μg/kg, 从图谱可以看出, 空白样品色谱图的图谱干扰少, 8 种拟除虫菊酯农药得到了较好的分离。8 种拟除虫菊酯在 10, 20, 50 μg/kg 加标水平下的回收率及相对标准偏差见表 2。8 种拟除虫菊酯农药回收率为 71% ~ 115%, 相对标准偏差为 4.5% ~ 9.8%, 方法准确可靠。

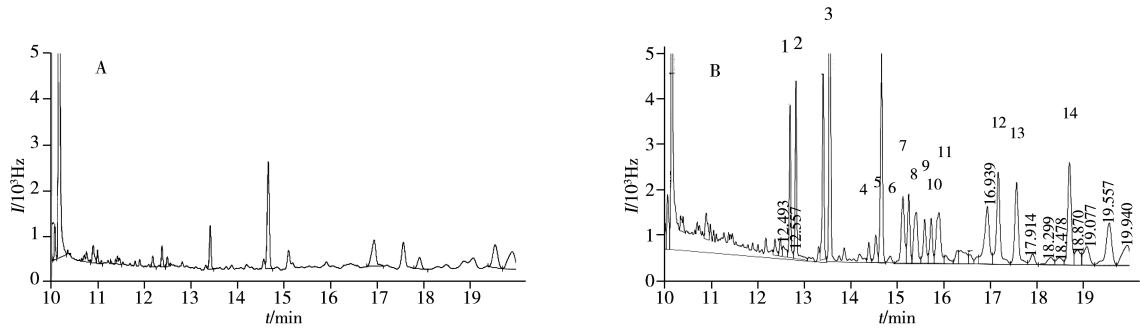


图 1 杏仁空白样品(A)及杏仁空白样品加标(B)的色谱图

Fig. 1 Chromatograms of blank almonds sample(A) and blank almonds sample spiked with 8 pyrethroid pesticide residues(B)

1. bifenthrin, 2. fenpropathrin, 3. lambdacyhalothrin, 4. permethrin I, 5. permethrin II, 6. cyfluthrin I, 7. cyfluthrin II, 8. cyfluthrin III, 9. cypermethrin I, 10. cypermethrin II, 11. cypermethrin III, 12. fenvalerate I, 13. cyfluthrin II, 14. deltamethrin

表 2 8 种拟除虫菊酯在 3 种坚果基质中的回收率及相对标准偏差 ($n=6$)

Table 2 Recoveries and RSD of 8 pyrethroid pesticide residues in three kinds of nuts matrices ($n=6$)

Pesticides	夏威夷果(Hawaii nuts)			开心果(Pigeon nuts)			杏仁(Almonds)		
	Added ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	Recovery (%)	RSD (%)	Added ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	Recovery (%)	RSD (%)	Added ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	Recovery (%)	RSD (%)
Bifenthrin	10	89	6.2	10	95	8.4	10	95	6.8
	20	90	7.8	20	91	8.3	20	97	8.7
	50	91	9.0	50	92	8.6	50	99	7.1
Fenpropathin	10	90	7.0	10	94	9.8	10	99	7.7
	20	91	7.9	20	93	7.8	20	102	5.5
	50	96	8.5	50	95	8.7	50	110	7.3
Cyhalothrin	10	93	8.0	10	95	7.9	10	100	8.0
	20	92	8.1	20	94	7.5	20	106	6.7
	50	112	8.7	50	102	8.9	50	112	6.0
Permethrin	10	105	7.3	10	94	8.4	10	110	4.5
	20	99	8.3	20	102	8.3	20	105	8.8
	50	105	8.9	50	103	8.8	50	114	7.4
Cyfluthrin	10	96	5.9	10	96	6.1	10	92	7.2
	20	113	7.9	20	101	7.9	20	114	9.0
	50	101	9.5	50	106	8.6	50	98	7.8
Cypermethrin	10	88	8.5	10	89	7.9	10	95	8.2
	20	90	8.1	20	92	9.2	20	99	6.5
	50	102	8.9	50	99	8.9	50	115	8.0
Fenvalerate	10	96	8.7	10	95	8.6	10	102	6.5
	20	93	8.2	20	88	9.0	20	96	7.7
	50	110	9.0	50	93	8.8	50	112	6.9
Deltamethrin	10	72	9.1	10	71	7.9	10	86	7.4
	20	72	7.8	20	72	8.8	20	89	6.5
	50	85	8.6	50	85	8.7	50	90	7.6

2.6 实际样品的测定

对东盟进口的 380 份坚果样品进行 8 种拟除虫菊酯类农药的检测, 其中有 10 个样品检出氯菊酯、溴氰菊酯 2 种农药, 但均低于 MRL。因坚果是取可食部分进行农残检测, 坚果外层果壳能够有效降低进入果肉中的农药残留量。检测结果表明所抽检的坚果样品农药检出含量较低, 是一种相对安全的食品。

3 结论

本文建立了同时检测坚果中 8 种拟除虫菊酯农药残留的气相色谱分析方法, 采用乙腈为萃取溶剂, 超声波法提取样品, 大大缩短了萃取时间, 提高了萃取效率; 选 Alumina - N 串联 Florisil 柱净化样品, 样品净化效果良好。本方法在 $0.01 \sim 1.0 \mu\text{g}/\text{mL}$ 浓度范围内具有良好的线性关系, 相关系数为 $0.9992 \sim 0.9999$; 对夏威夷果、开心果、杏仁 3 种样品进行加标回收实验, 8 种拟除虫菊酯农药的回

收率为71%~115%, 相对标准偏差为4.5%~9.8%, 检出限为0.014~0.28 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 定量下限0.047~0.94 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。结果表明所建立的方法分离效果好、准确可靠、回收率高、方便快捷, 适用于坚果中农药残留的日常检测。

参考文献:

- [1] Li N, Shi Z H, Pang G F, Fan C L. *J. Instrum. Anal.* (李南, 石志红, 庞国芳, 范春林. 分析测试学报), **2011**, 30(5): 513-521.
- [2] Rong R F. *J. Beijing Union Univ. : Nat. Sci.* (荣瑞芬. 北京联合大学学报: 自然科学版), **2010**, 24(1): 12-16.
- [3] General Administration of Quality Supervision, Inspection and Quarantine of the People's Republic of China(国家质量监督检验检疫总局进出口食品安全局). [2010-04-11]. <http://www.tbtsps.com/foodsafes/Pages/Default.aspx>.
- [4] Li Y J, Huang Z Q, Dai H, Zhang Y. *Chin. J. Anal. Chem.* (李拥军, 黄志强, 戴华, 张莹. 分析化学), **2002**, 30(7): 865-868.
- [5] Zhu Z Y, Feng M, He J, Xiong H X, Zeng Y. *Chem. Anal. Meterage*(朱臻怡, 冯民, 何健, 熊华萱, 曾义. 化学分析计量), **2009**, 18(3): 32-34.
- [6] Li C C, Sun M N, Wang M, Li L S, Wang J P, Wang C Y. *J. Fruit Sci.* (李昌春, 孙明娜, 王梅, 李良松, 王金品, 王成应. 果树学报), **2004**, 21(5): 496-498.
- [7] Tuzimski T, Rejczak T. *J. AOAC Int.*, **2014**, 97(4): 1012-1020.
- [8] Wu Y, Kang Q H, Gao K Y, Li Z B. *Chin. J. Anal. Chem.* (吴岩, 康庆贺, 高凯扬, 李志斌. 分析化学), **2009**, 37(5): 753-757.
- [9] Kang Q H, Wu Y, Gao K Y, Li Z B. *Chin. J. Chromatogr.* (康庆贺, 吴岩, 高凯扬, 李志斌. 色谱), **2009**, 27(2): 181-185.
- [10] Song H, Xue Y Y, Lin Q B. *Chin. J. Anal. Chem.* (宋欢, 薛园园, 林勤保. 分析化学), **2009**, 37(5): 782.
- [11] Chen S A. *Fujian Anal. Test.* (陈师安. 福建分析测试), **2012**, (1): 8-11.
- [12] Zhao B C, Li L, Sun M S. *Agric. Technol.* (赵保成, 李琳, 孙明山. 农业与技术), **2015**, 35(1): 43.
- [13] Ling J C, Li W Z, He C W, Tan L. *Guangxi J. Light Ind.* (凌经昌, 李文最, 何成伟, 谭灵. 广西轻工业), **2010**, 8(141): 24-25.
- [14] Yang L L, Ji Y, He Y P. *Chem. Anal. Meterage*(杨丽莉, 纪英, 赫元萍. 化学分析计量), **2005**, 14(5): 38-40.

俄罗斯化学家研制出能测定有毒微量杂质的吸附剂

俄罗斯托木斯克国立大学化学系化学生态实验室的科研人员研制出二氧化硅凝胶基吸附剂, 能识别浓度很低的有毒微量杂质。这种吸附剂还能够用来进行生态和刑事侦查鉴定, 识别伪造品。

该吸附剂表面为金属螯合物的改性剂, 是一种络合物, 具有不同成分和结构, 能够浓缩、析出、分析鉴定有机物。吸附剂还具有较高的热稳定性和耐水解性, 不会溶解和膨胀, 因此适用于鉴定各种液体。

吸附剂具有较高的吸收能力, 为其它很多化学分析所不能替代。比如, 使用该吸附剂检测葡萄酒就可确定种植葡萄时是否使用了化学杀虫剂和除莠剂。该吸附剂成本低廉, 生产过程简单。

托木斯克国立大学化学系化学生态实验室成立于1996年, 主要从事整合色谱吸附剂物理化学性能的研究。

信息来源: 科技部网站