

· 研究论文 ·

固相萃取-气相色谱-质谱法测定 韭菜中 16 种农药残留

李莉¹, 郑尊涛³, 孙大利¹, 刘聪云², 刘丰茂^{* 2}

(1. 中国科学院 动物研究所 农业虫害鼠害综合治理国家重点实验室 北京 100101;
2. 中国农业大学 理学院 北京 100193; 3. 农业部 农药检定所 北京 100125)

摘要:建立了韭菜中 16 种农药的多残留分析方法。韭菜样本经微波炉加热处理,乙腈提取,新型固相萃取柱 Cleanert TPT 净化,以气相色谱-质谱-选择离子监测模式测定。结果表明:微波处理、固相萃取净化可以有效去除基质干扰,16 种农药在 0.02 ~ 2 mg/L 范围内线性关系良好;在 0.01 和 0.5 mg/kg 两个添加水平下的平均回收率分别在 84.6% ~ 124.2% 和 92.4% ~ 98.5% 之间,相对标准偏差(RSD)均小于 20%;16 种农药的检出限(LOD)在 1 ~ 6 μg/kg 范围内。

关键词:气相色谱-质谱法;韭菜;农药;多残留

DOI: 10.3969/j.issn.1008-7303.2011.05.12

中图分类号:O657.63 文献标志码:A 文章编号:1008-7303(2011)05-0509-05

Determination of sixteen pesticide residues in leek by solid phase extraction and gas chromatography with mass spectrum

LI Li¹, ZHENG Zun-tao³, SUN Da-li¹, LIU Cong-yun², LIU Feng-mao^{* 2}

(1. State Key Laboratory of Integrated Management of Pest Insects and Rodents, Institute of Zoology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China;
2. College of Science, China Agricultural University, Beijing 100193, China;
3. Institute for Pesticide Control, Ministry of Agriculture, Beijing 100125, China)

Abstract: A rapid and effective method was developed for the determination of sixteen pesticides in leek. Leek samples were heated by microwave, extracted by acetonitrile, cleaned up with Cleanert TPT SPE column and detected by GC-MS under SIM mode. The results showed that it was effective to remove the interferences with the microwave treatment and SPE cleanup. The linearity of sixteen pesticides was satisfied between 0.02 and 2 mg/L. The average recoveries fortified at 0.01 and 0.5 mg/kg were 85% - 124% and 92% - 98%, respectively, with both relative standard deviations of less than 20%. The limits of detection ranged from 1 - 6 μg/kg.

Key words: GC-MS; leek; pesticide; multi-residue

韭菜中的农药残留测定问题一直受到广泛关注,主要是韭菜基质中的活性酶会在样品粉碎时促

使其释放出硫化物,从而严重干扰对韭菜中残留农药的定性、定量分析^[1];另外,由于韭菜提取样本中

收稿日期:2011-06-27;修回日期:2011-07-29.

作者简介:李莉(1981-),女,山西人,助理研究员, E-mail: lili2008@ioz.ac.cn; * 通讯作者(Author for correspondence):刘丰茂(1971-),男,河北人,博士,教授,主要研究方向为农药残留分析,电话:010-62731978, E-mail: lfm2000@cau.edu.cn

色素含量较高,如果没有好的净化方法,就需要频繁对仪器进行维护和清洗。因此,如何降低韭菜基质的干扰是目前韭菜中农药残留检测时亟需解决的问题。

近年来,国内外已经开展了关于韭菜中农药残留检测技术的一些研究。在基质净化方面主要有磷酸法^[2]、凝胶色谱净化法^[3]、加热法^[4]、微波法^[5-6]和逆固相分散净化法^[1]等;分析技术主要有气相色谱-质谱-自动质谱退卷积定性技术^[7]、气相色谱-三重四级杆质谱^[8]、气相色谱法^[9]等。尚未见将新型混装固相萃取柱用于韭菜中农药残留分析的报道。

Cleanert TPH、TPT、PestiCarb/NH₂ 和 PestiCarb 是新开发的固相萃取柱,对于色素含量较高的蔬菜、水果样本均有一定的净化效果^[10]。其中,Cleanert TPT、TPH 已分别被应用到国标方法中^[11-14]。

本研究以市售韭菜为样本,选择在欧盟和日本已经制定了最大残留限量(MRL)标准的16种代表性农药为测试目标,采用固相萃取法净化,气相色谱-质谱法(GC-MS)测定,建立了复杂基质——韭菜中16种农药的残留分析方法。

1 材料与方 法

1.1 试剂与仪器

农药标准品:丙线磷(ethoprophos)、氟乐灵(trifluralin)、嘧霉胺(pyrimethanil)、二嗪磷(diazinon)、乙草胺(acetochlor)、甲草胺(alachlor)、甲霜灵(metalaxyl)、马拉硫磷(malathion)、喹硫磷(quinalphos)、腈菌唑(myclobutanil)、噁嗪酮(buprofezin)、丙环唑(propiconazole)、戊唑醇(tebuconazole)、溴螨酯(bromopropylate)、联苯菊酯(bifenthrin)和氯氟氰菊酯(cyhalothrin),纯度均大于98%(由中国农业科学院农药残留分析室提供),所有标准品用丙酮溶解,配制成质量浓度分别为1 000 mg/L的标准溶液,备用。

乙腈和甲苯为色谱纯;氯化钠和硫酸钠为分析纯,硫酸钠使用前于650℃烘烤4 h,备用。韭菜样本购自北京市某农贸市场,冷冻保存。

Agilent 6890N/5975 inert MSD 气相色谱-质谱联用仪(Agilent Technologies),带有7683B自动进样器、分流/不分流进样口及EPC(电子自动控制)模式;HP-5MS(Agilent)色谱柱[30 m×0.25 mm(*i. d.*)×0.25 μm]熔融石英毛细管柱。

4种固相萃取柱(1 g/6 mL):Cleanert PestiCarb与PSA柱串联使用,Cleanert pestiCarb/NH₂,Cleanert

TPH,Cleanert TPT,均由天津博纳艾杰尔科技有限公司提供。

G80F20CN21-b8 微波炉(800 W,佛山市格兰仕电器有限公司)。

1.2 目标农药

供试的16种代表性农药及其MRL值见表1。

表1 欧盟和日本规定的韭菜中农药最大残留限量标准
Table 1 MRLs set on leek by EU and Japan

农药 Pesticides	欧盟规定的 最大残留限量 ^[15] MRL by EU/ (mg/kg)	日本规定的 最大残留限量 ^[16] MRL by Japan (mg/kg)
丙线磷(ethoprophos)	0.02	-
氟乐灵(trifluralin)	0.5	0.05
嘧霉胺(pyrimethanil)	1	-
二嗪磷(diazinon)	0.01	0.1
乙草胺(acetochlor)	0.01	-
甲草胺(alachlor)	0.1	0.01
甲霜灵(metalaxyl)	0.2	2
马拉硫磷(malathion)	0.02	2
喹硫磷(quinalphos)	0.05	0.05
腈菌唑(myclobutanil)	0.02	1
噁嗪酮(buprofezin)	0.05	-
丙环唑(propiconazole)	0.1	0.05
戊唑醇(tebuconazole)	1	0.5
溴螨酯(bromopropylate)	-	0.5
联苯菊酯(bifenthrin)	0.05	1
氯氟氰菊酯(cyhalothrin)	-	0.5

1.3 样本前处理

提取:将韭菜样本剪成1~2 cm小段,准确称取10.00 g±0.05 g于50 mL离心管中,微波(中火)加热40 s,冷却至室温。准确加入20 mL乙腈,匀浆提取1 min后加入6 g氯化钠,剧烈摇动1 min,于3 000 r/min下离心3 min。取上清液10 mL于100 mL鸡心瓶中,35℃下浓缩至近干,待净化。

净化:在4种供试固相萃取柱中加入高约2 cm的无水硫酸钠,先用10 mL乙腈-甲苯(3:1,体积比)混合溶剂预淋洗,再将上述提取浓缩物用该混合溶剂溶解后转移至萃取柱中,最后用25 mL混合溶剂淋洗。收集所有淋洗液,于35℃下旋蒸浓缩至近干。用乙腈定容至1 mL,待GC-MS检测。

1.4 GC-MS 检测条件

GC:进样口温度250℃;不分流进样,进样量1 μL。程序升温:起始温度80℃,保持1 min;以10℃/min升温至180℃,保持10 min;再以20℃/min升温至270℃,保持10 min。载气为He,

流速 1 mL/min。

MS: 选择离子监测模式。离子源温度 230 °C; 四极杆温度 150 °C; 离子化方式为 EI; 电子能量

70 eV。在 50 ~ 600 amu 范围内全扫描, 确定各农药的保留时间和主要离子。设置的选择离子监测模式见表 2。

表 2 各种农药的保留时间、选择离子监测模式时间段及其定性、定量离子

Table 2 Retention time, time window, quantitative ion and identification ion of pertinent compounds

农药 Pesticide	保留时间 Retention time/min	时间段 Time window /min	定量、定性离子(强度)* Quantitative and identification ions(intensity)*, m/z			
丙线磷(ethoprophos)	11.87	6.01 ~ 12.00	158(100)	139(55.1)	200(37.1)	242(23.2)
氟乐灵(trifluralin)	12.54	12.01 ~ 14.00	306(100)	264(75.6)	290(13.9)	
噁霉胺(pyrimethanil)	14.61	14.01 ~ 16.00	198(100)	199(45.9)	200(5.5)	
二嗪磷(diazinon)	14.78	14.01 ~ 16.00	179(100)	137(123.6)	199(78.9)	304(52.0)
乙草胺(acetochlor)	16.91	16.01 ~ 17.20	146(100)	162(83.8)	223(58.0)	
甲草胺(alachlor)	17.49	17.21 ~ 18.50	146(100)	160(262.3)	188(219.4)	
甲霜灵(metalaxyl)	17.44	17.21 ~ 18.50	146(100)	160(57.7)	206(52.5)	
马拉硫磷(malathion)	19.25	18.51 ~ 20.00	173(100)	125(103.9)	127(89.4)	
喹硫磷(quinalphos)	22.67	20.01 ~ 23.00	146(100)	157(58.2)	298(15.4)	
腈菌唑(myclobutanil)	24.26	23.01 ~ 25.00	179(100)	150(53.7)	181(32.0)	
噻嗪酮(buprofezin)	24.30	23.01 ~ 25.00	172(100)	105(266.3)	305(23.3)	
丙环唑(propiconazole)	25.59	25.01 ~ 26.00	259(100)	173(98.7)	175(63.7)	
	25.68	25.01 ~ 26.00	259(100)	173(113.3)	175(72.4)	
戊唑醇(tebuconazole)	25.78	25.01 ~ 26.00	250(100)	125(144.1)	127(50.5)	
溴螨酯(bromopropylate)	26.37	26.01 ~ 27.00	341(100)	183(61.8)	185(59.8)	
联苯菊酯(bifenthrin)	26.44	26.01 ~ 27.00	181(100)	165(31.2)	166(29.6)	
氯氟氰菊酯(cyhalothrin)	27.21	27.01 ~	181(100)	197(66.8)	208(46.2)	
	27.42	27.01 ~	181(100)	197(68.9)	208(46.5)	

* 第一列为定量离子。* The first ion was used for quantitative analysis.

1.5 方法学考察

以乙腈提取空白样本得到的提取液为溶剂, 配制各农药质量浓度分别为 0.02、0.05、0.2、0.5、1、2 mg/L 的基质匹配标样, 进行 GC-MS 测定。以峰面积为 y 轴, 质量浓度为 x 轴制作标准工作曲线, 求出各农药的回归方程和相关系数; 按照 3 倍信噪比设定农药的检出限 (LOD), 由最小添加水平设定其定量限 (LOQ)。测定 0.01 和 0.5 mg/kg 两个添加水平下的平均回收率和相对标准偏差 (RSD), 用以确定方法的准确度和精密度。

2 结果与讨论

2.1 农药的提取与净化

2.1.1 提取方法 采用微波加热可以钝化韭菜中的活性酶, 抑制相关硫化物的产生, 有效去除基质干扰的影响^[1]。本研究结果(见图 1)表明: 在选择离子监测模式下, 经微波加热处理过的韭菜空白图谱中的杂质较未处理过的明显减少。微波加热尤其有利于低浓度农药的定性、定量分析。

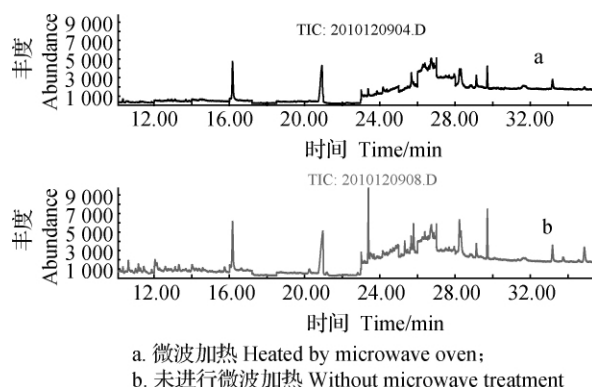


图 1 韭菜空白样本的 GC-MS-SIM 色谱图
Fig. 1 The GC-MS-SIM chromatogram of blank leek sample

2.1.2 固相萃取柱的选择 结果(见图 2)表明, 4 种固相萃取柱均能较好地去除韭菜中色素的干扰。综合评价, 以 TPT 柱的净化效果最好, 因此最终选择 TPT 柱进行添加回收实验。

2.2 方法学考察结果

16 种农药的回归方程和相关系数见表 3。其

LOD 在 1 ~ 6 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 之间, LOQ 均为 0.01 mg/kg 。率在 0.01 和 0.5 mg/kg 两个添加水平下的平均回收率分别为 84.6% ~ 124.2% 和 92.4% ~ 98.5%, RSD 均小于 20%。典型色谱图见图 3。

表 3 16 种农药的线性方程、检出限、回收率及相对标准偏差

Table 3 Linear equation, correlation coefficient, LOD, recovery and RSD of 16 pesticides

农药 Pesticide	线性方程 Linear equation	相关系数 Correlation coefficient r	检出限 LOD/ ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	添加水平 Fortified level ($n=5$)			
				0.01 mg/kg		0.5 mg/kg	
				回收率 Recovery /%	相对标准偏差 RSD /%	回收率 Recovery /%	相对标准偏差 RSD (%)
丙线磷(ethoprophos)	$y=307\ 604x-3\ 924.2$	0.999 6	5	103.7	6.5	94.5	6.7
氟乐灵(trifluralin)	$y=620\ 908x-14\ 511$	0.997 6	1	96.0	8.1	92.4	6.1
啉霉胺(pyrimethanil)	$y=1\ 543\ 490x-52\ 592$	0.996 8	6	84.6	17.3	95.5	6.2
二嗪磷(diazinon)	$y=394\ 241x-6\ 221$	0.998 9	5	99.8	6.7	92.9	3.0
乙草胺(acetochlor)	$y=300\ 385x-6\ 223.1$	0.998 2	5	109.4	6.7	94.4	5.6
甲草胺(alachlor)	$y=175\ 660x-2\ 636.7$	0.999 8	6	124.2	7.0	93.5	5.1
甲霜灵(metalaxyl)	$y=176\ 500x-3\ 226$	0.999 4	6	111.2	7.4	94.2	4.9
马拉硫磷(malathion)	$y=358\ 846x-15\ 763$	0.995 1	6	115.9	8.2	98.5	7.4
喹硫磷(quinalphos)	$y=537\ 810x-23\ 557$	0.997 5	3	113.1	8.8	97.9	9.9
腈菌唑(myclobutanil)	$y=651\ 374x-20\ 676$	0.998 1	5	117.9	8.4	94.0	5.1
噻嗪酮(buprofezin)	$y=317\ 864x-3067.2$	0.999 2	6	100.1	5.9	94.2	2.6
丙环唑(propiconazole)	$y=425\ 124x-9\ 826.2$	0.997 2	6	115.3	5.5	95.9	5.9
戊唑醇(tebuconazole)	$y=477\ 991x-13\ 592$	0.997 9	6	114.9	7.4	94.1	6.3
溴螨酯(bromopropylate)	$y=801\ 885x-8\ 862.3$	0.999 3	6	106.2	13.9	95.3	3.7
联苯菊酯(bifenthrin)	$y=2\ 795\ 450x-11\ 731$	0.999 5	1	108.4	8.6	93.5	3.1
氯氟氰菊酯(cyhalothrin)	$y=607\ 616x-17\ 599$	0.997 3	6	103.9	8.1	96.7	8.8

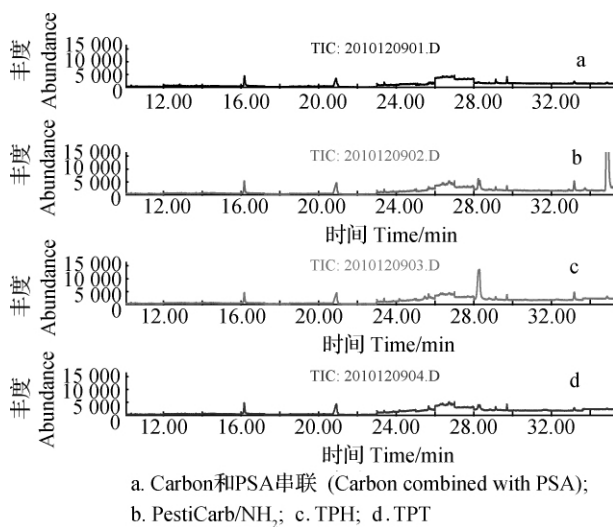


图 2 采用不同固相萃取柱净化韭菜空白样品后的色谱图
Fig. 2 The chromatogram of leek sample cleaned up by different types of SPE

3 结论

研究建立了复杂基质——韭菜中 16 种农药的多残留分析方法。韭菜样本经过微波加热,乙腈提取,采用新型固相萃取柱 Cleanet TPT 净化,气相色谱-质谱法在选择离子监测模式下测定。16 种农药

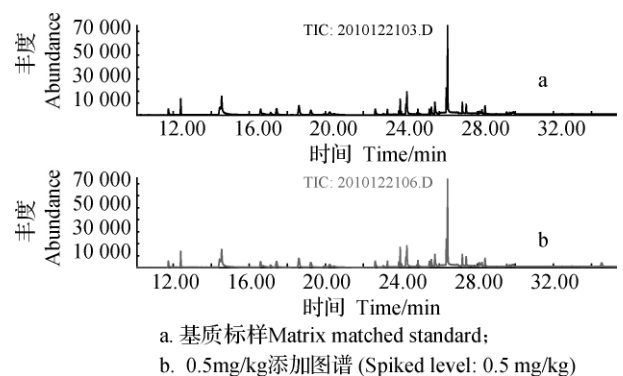


图 3 韭菜样本的添加图谱

Fig. 3 The chromatogram of leek sample

在 0.02 ~ 2 mg/L 范围内线性关系良好, 0.01 和 0.5 mg/kg 两个添加水平的平均回收率分别在 85% ~ 124% 和 92% ~ 98% 之间, LOQ 为 0.01 mg/kg 。该方法能有效净化韭菜中的杂质, 可用于测定韭菜中的多种农药残留。

参考文献:

- [1] CHEN Li(陈黎), WANG Jin-fang(王金芳), DU Peng(杜鹏), et al. 韭菜中吡虫啉和啶虫脒残留的微波处理-逆固相分散法

- 净化及液相色谱检测[J]. *Chinese J Anal Chem* (分析化学), 2008, 36(10): 1364-1368.
- [2] JI Shu-juan(纪淑娟), LIU Chang-jiang(刘长江), ZUOTENG Yuan-zhao(佐藤元昭), *et al.* 用气-质联用技术检测葱、蒜、韭菜中多种农药残留量时试样预处理方法[J]. *PART B: Chem Anal*(理化检验: 化学分册 B) 2006 42: 914-917.
- [3] SONG S L, MA X D, LI C J. Multi-residue determination method of pesticides in leek by gel permeation chromatography and solid phase extraction followed by gas chromatography with mass spectrometric detector[J]. *Food Control* 2007, 18: 448-453.
- [4] MEI Wen-quan(梅文泉), LI Qi-wan(黎其万), HUANG Si-si(黄司思) *et al.* 加热处理-气相色谱法测定韭菜中有机磷农药残留量[J]. *Chinese J Anal Lab* (分析实验室), 2006, 25(8): 42-44.
- [5] WANG S L, YANG S P, REN L P, *et al.* Determination of organophosphorus pesticides in leeks (*Allium porrum* L.) by GC-FPD[J]. *Chromatographia* 2009 69(1-2): 79-84.
- [6] WANG Jian-hua(王建华), ZHANG Yi-bing(张艺兵), TANG Zhi-xu(汤志旭) *et al.* 微波处理-气相色谱法测定含硫蔬菜中的多类农药残留[J]. *J Instrum Anal*(分析测试学报) 2005, 24(1): 100-102.
- [7] ZHANG Wei-guo(张伟国), TAO Chuan-jiang(陶传江), LI Chong-jiu(李重九). GC/MS/AMDIS 技术用于韭菜中残留农药的确证[J]. *J Chinese Mass Spectrom Soc*(质谱学报) 2004, 25(3): 141-144.
- [8] QU L J, ZHANG H, ZHU J H, *et al.* Rapid determination of organophosphorous pesticides in leeks by gas chromatography-triple quadrupole mass spectrometry[J]. *Food Chem* 2010, 122: 327-332.
- [9] YING Xing-hua(应兴华), XU Xia(徐霞), HU Min-jun(胡敏骏) *et al.* 毛细管气相色谱法测定韭菜中 13 种有机磷农药残留的研究[J]. *Chinese J Anal Lab*(分析测试学报) 2009, 28(10): 1185-1188.
- [10] 天津博纳艾杰尔科技有限公司(Bonna-Agela Technologies). Solid Phase Extraction(固相萃取) [EB/OL] [2011-06-05]. http://www.agela.com.cn/pro_list.aspx?id=10
- [11] GB/T 23204-2008, Determination of 519 pesticides and related chemicals residues in teas: GC-MS method(茶叶中 519 中农药及相关化学品残留量的测定: 气相色谱-质谱法) [S]. Beijing(北京): Standard Press of China(中国标准出版社) 2008.
- [12] GB/T 23205-2008, Determination of 448 pesticides and related chemicals residues in tea: LC-MS-MS method(茶叶中 448 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]. Beijing(北京): Standard Press of China(中国标准出版社), 2008.
- [13] GB/T 23200-2008, Determination of 488 pesticides and related chemicals residues in mulberry twig, honeysuckle, barbary wolfberry fruit and lotus leaf: GC-MS method(桑枝、金银花、枸杞子和荷叶中 488 中农药及相关化学品残留量的测定: 气相色谱-质谱法) [S]. Beijing(北京): Standard Press of China(中国标准出版社) 2008.
- [14] GB/T 23201-2008, Determination of 413 pesticides and related chemicals residues in mulberry twig, honeysuckle, barbary wolfberry fruit and lotus leaf-LC-MS-MS method(桑枝、金银花、枸杞子和荷叶中 413 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]. Beijing(北京): Standard Press of China(中国标准出版社) 2008.
- [15] EU Pesticides database. Pesticide EU-MRLs[DB/OL] [2011-06-01]. http://ec.europa.eu/sanco_pesticides/public/index.cfm
- [16] 农业部药检所-农药最大残留数据查询系统[DB/OL] [2011-06-05]. <http://www.chinapesticide.gov.cn/mprlsv/mprls.html>

(责任编辑: 金淑惠)