

气相色谱法 (GC-FPD) 快速测定蔬菜、水果中 18 种有机磷农药残留

汤 婕¹, 汤 锋^{2*}, 岳永德², 花日茂¹

(1. 安徽农业大学资源与环境学院, 合肥 230036; 2. 国际竹藤中心, 北京 100080)

摘 要: 建立 18 种有机磷农药在青菜、黄瓜、萝卜、苋菜、辣椒 5 种蔬菜和桃子、苹果 2 种水果中残留量快速检测方法。样品中有机磷农药采用乙酸乙酯提取, 取适量样品提取液直接用 GC-FPD 检测, 低浓度的添加回收样品浓缩至一定体积后进样。18 种供试农药的定量限 (LOQ) 在 2~30 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 范围内, 检测限 (LOD) 在 3.6×10^{-10} g~ 5.5×10^{-12} g 范围内, 回收率在 70.25%~120.50%, 变异系数在 0.65%~30.70%, 满足农药残留分析要求。

关键词: 蔬菜; 水果; 有机磷农药多残留分析; GC-FPD

中图分类号: X592

文献标识码: A

文章编号: 1672-352X (2013)06-1054-05

Rapid detection of 18 organophosphorus pesticide multiresidue in vegetables and fruits with GC-FPD

TANG Jie¹, TANG Feng², YUE Yong-de², HUA Ri-mao¹

(1. School of Resources and Environment, Anhui Agricultural University, Hefei 230036;

2. International Center for Bamboo & Rattan, Beijing 100080)

Abstract: A method for detecting 18 organophosphorus pesticide residues in vegetables and fruits by GC-FPD was developed. The samples were extracted by ultrasonic extraction with ethyl acetate. The extracts were determined by GC-FPD. The LOQ and LOD of 18 pesticides were in the range of 2 - 30 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ and 3.6×10^{-10} g - 5.5×10^{-12} g, respectively. The fortified recoveries of 18 pesticides were from 70.25% to 120.50%, and the RSDs (relative standard deviation) were from 0.65% to 30.70%. The fortified recoveries and RSDs were all in accordance with the pesticide multi-residue's demands.

Key words: vegetable; fruit; organophosphorus pesticide multi-residue analysis; GC-FPD

随着人们生活水平逐步提高, 及六六六、滴滴涕等有机氯农药的禁用, 有机磷农药在品种、用量、防治面积和应用范围上都有大幅度增加。对人危害最为直接和严重的蔬菜和水果的有机磷农药残留问题, 已成为制约我国果蔬产业发展的重要因素^[1]。随着不同种类农药的使用和人们对日常农药残留监测项目、数量的提升, 农药残留分析需要进行多种类农药的同时检测(MRMs)已势在必行。目前国内外已有很 MRMs 方法, 但这些方法都有一个共性: 耗时、耗力、费用昂贵, 多种农药同时分析时很难满足所有待测农药均取得很好的定性定量效果^[2-3]。QuEChERS (quick, easy, cheap, rugged and safe 的农

产品检测快速样品前处理技术) 方法在蔬菜水果农残分析中具有快速、简单、廉价、有效、可靠和安全等优势, 共同特点是节省时间、减轻劳动强度、节省溶剂、减少样品用量、提高提取或净化效率及提高自动化水平^[4-5], 目前根据这一原则已形成 AOAC 2007. 01、EN15662 和 NY/T 1380-2007 标准方法^[6-7]。由于不同蔬菜和水果的特殊基质效应, 其有机磷农药多残留分析方法研究较少^[8-10]。作者本着 QuEChERS 样品前处理方法原理^[7, 11], 采用 GC-FPD 方法确立了蔬菜(青菜、黄瓜、萝卜、苋菜、辣椒)和水果(桃子、苹果)中 18 种有机磷农药残留快速分析方法。该方法具有简单, 无需净化, 快速、

收稿日期: 2012-06-18

作者简介: 汤 婕, 女, 讲师。E-mail: tangjie_1@tom.com

* 通信作者: 汤 锋, 男, 博士, 教授, 博士生导师。E-mail: fengtang@icbr.ac.cn

准确等优点, 可用于蔬菜和水果等农产品生产中主要有机磷农药残留的快速检测。

1 材料与方 法

1.1 农药与试剂

敌敌畏和杀螟硫磷(99%, 天津农药厂), 敌百虫、乙酰甲胺磷、久效磷、马拉硫磷及辛硫磷(99%, 国家农药质检中心, 沈阳), 甲胺磷、三唑磷及啶硫磷、(99%, 国家农药质检中心, 北京), 甲拌磷(99%, 天津农药股份有限公司), 二嗪磷(97.5%, 国家农药质检中心, 北京), 乐果(99.2%, 国家农药质检中心, 北京), 甲基对硫磷(99%, 德国进口), 毒死蜱(95%, 浙江仙居农药厂), 对硫磷(97%, 天津农药厂), 甲基异柳磷(90.9%, 国家农药质检中心, 沈阳), 水胺硫磷(99.5%, 国家农药质检中心, 沈阳)。

乙酸乙酯, 分析纯; 无水硫酸钠, 分析纯; 实验用水均为蒸馏水。

1.2 仪器

Agilent 6890 气相色谱仪, 具 FPD; SB3200 超声波发生器; 多功能食品加工机; RE-52 旋转蒸发器。

1.3 实验方法

1.3.1 试样制备 从菜市购买新鲜菜样, 取可食用部分作为样品, 称取 40 g 匀浆于 250 mL 的具塞三角瓶中, 添加 3 组不同浓度的混合标样 0.4 mL, 添加后样品中各种农药含量见表 2。每个处理重复 3 次, 设 3 个批次, 计 9 次重复。平衡 30 min, 加 80

mL 乙酸乙酯和 40 g 无水硫酸钠, 超声波振荡 2 min; 提取的上清液经过滤后直接进样分析。低浓度添加样品, 先滤出全部提取液, 浓缩至 5 mL, 待分析。

从菜市购买新鲜水果样, 取可食用部分作为样品, 称取 40 g 匀浆于 250 mL 的具塞三角瓶中, 添加 3 组不同浓度的混合标样 0.4 mL, 添加后样品中各种农药含量见表 2。每个处理重复 3 次, 设 3 个批次, 计 9 次重复。平衡 30 min, 加 80 mL 乙酸乙酯和 40 g 无水硫酸钠, 超声波振荡 2 min; 提取的上清液经过滤后直接进样分析。低浓度添加样品, 先滤出全部提取液, 浓缩至 5 mL, 待分析。

1.3.2 测定条件 Agilent 6890 气相色谱仪, 具火焰光度检测器(FPD-P 滤光片); 色谱柱: DB-17MS, 30 m×0.32 mm×0.25 μm 毛细管柱; 操作条件: 检测温度, 250℃; 进样口, 200℃, 不分流进样; 程序升温: 60℃, 保持 1 min; 以 30℃·min⁻¹ 升至 180℃, 保持 1 min; 20℃·min⁻¹ 升温至 200℃, 保持 6 min; 40℃·min⁻¹ 升温至 240℃, 保持 2 min; 40℃·min⁻¹ 升温至 260℃, 保持 5 min。H₂: 100 mL·min⁻¹, Air: 130 mL·min⁻¹。载气: 99.999%N₂, 1.5 mL·min⁻¹。尾吹气: 30 mL·min⁻¹。

2 结果与分析

2.1 标准曲线的绘制、方法的最低检测限(LOD)与定量限(LOQ)

分 2 组配制系列浓度的 18 种农药混合标样, 以

表 1 18 种有机磷农药线性回归方程、相关系数(r^2)、检测限(LOD)、定量限(LOQ) 及保留时间 (RT)

Table 1 The regression equations, correlation coefficients, LODs, LOQs and RTs of 18 organophosphorus pesticides

农药名称 Name of pesticide	线性回归方程 Linear equation	相关系数/ r^2 Correlation coefficient	检测限/g LOD	定量限/ $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ LOQ	保留时间/min RT
敌敌畏 Dichlorovos	$y = 4\ 878.4\ x - 245.72$	0.999 3	7.1×10^{-11}	20	5.77
敌百虫 Trichlorphon	$y = 1\ 886.3\ x - 4.2756$	0.997 7	5.5×10^{-12}	10	5.86
甲胺磷 Methamidophos	$y = 922.07\ x - 232.32$	0.990 3	3.6×10^{-10}	30	6.71
乙酰甲胺磷 Acephate	$y = 2\ 945.7\ x - 29.674$	0.996 8	4.4×10^{-11}	25	8.05
甲拌磷 Phorate	$y = 5\ 983.6\ x + 39.208$	0.999 8	1.0×10^{-11}	5	9.41
二嗪磷 Diazinon	$y = 5\ 692.9\ x + 72.523$	0.999 9	4.8×10^{-12}	5	10.33
久效磷 Monocrotophos	$y = 2\ 488.3\ x - 150.74$	0.995 6	1.0×10^{-10}	25	11.35
乐果 Dimethoate	$y = 2\ 443.5\ x - 142.09$	0.995 7	9.9×10^{-11}	10	12.33
甲基对硫磷 Parathion-methyl	$y = 2\ 785.4\ x - 37.6$	0.996 6	4.9×10^{-11}	5	14.03
毒死蜱 Chlorpyrifos	$y = 4\ 779.5\ x + 44.405$	0.998 9	1.2×10^{-11}	5	14.29
马拉硫磷 Malathion	$y = 3\ 370.6\ x + 22.844$	0.998 5	2.3×10^{-11}	5	14.41
杀螟硫磷 Fenitrothion	$y = 3\ 209.8\ x - 53.424$	0.995 3	4.8×10^{-11}	10	14.53
对硫磷 Parathion	$y = 4\ 485.4\ x + 36.323$	0.999 1	1.4×10^{-11}	5	14.62
甲基异柳磷 Isofenphos-methyl	$y = 5\ 047.5\ x + 32.396$	0.998 3	1.4×10^{-11}	5	15.50
水胺硫磷 Isocarbophos	$y = 3\ 809.1\ x + 25.427$	0.999 5	2.0×10^{-11}	2	15.58
啶硫磷 Quinalphos	$y = 5\ 845.3\ x + 77.739$	0.997 7	3.8×10^{-12}	15	16.07
辛硫磷 Phoxim	$y = 2\ 76.74\ x + 81.881$	0.996 1	6.5×10^{-11}	30	16.71
三唑磷 Triazophos	$y = 2\ 009.8\ x + 19.552$	0.989 9	4.0×10^{-11}	5	20.80

表2 青菜、萝卜、黄瓜、辣椒、苋菜、桃、苹果中18种有机磷农药添加回收率和RSD
Table 2 The recoveries and precisions of the 18 organophosphorus pesticides in vegetables and fruits

农药名称 Name of pesticide	添加浓度 /mg·kg ⁻¹ Fortified concentration	青菜 Greengrocery		萝卜 Radish		黄瓜 Cucumber		n
		平均值/% Recoveries	RSD/%	平均值/% Recoveries	RSD/%	平均值/% Recoveries	RSD/%	
敌敌畏 Dichlorovos	0.02~2.00	70.25~106.67	11.16~27.11	96.0~100.36	8.32~21.03	76.82~85.81	9.65~16.70	
敌百虫 Trichlorphon	0.01~1.00	96.99~104.15	9.81~18.24	70.92~102.62	0.65~21.03	86.11~90.88	12.09~19.04	
甲胺磷 Methamidophos	0.03~3.00	76.78~90.00	12.07~24.98	74.00~96.25	3.29~16.85	84.17~85.07	5.77~13.61	
乙酰甲胺磷 Acephate	0.025~2.50	93.33~108.67	10.90~23.86	90.35~99.30	5.68~22.08	89.45~113.79	13.29~15.74	
甲拌磷 Phorate	0.005~0.50	87.47~94.17	15.94~20.84	98.18~106.30	8.04~15.82	77.78~95.86	15.30~22.40	
二嗪磷 Diazinon	0.005~0.50	97.99~108.35	15.41~23.18	90.46~110.08	6.02~15.04	93.91~108.58	11.52~16.10	
久效磷 Monocrotophos	0.025~2.50	101.32~103.72	20.36~30.70	78.58~91.34	2.23~13.37	91.31~116.16	5.91~19.08	
乐果 Dimethoate	0.01~1.00	88.88~101.22	13.01~21.44	81.27~99.32	11.32~19.94	78.89~104.33	8.98~20.48	
甲基对硫磷 Parathion-methyl	0.005~0.50	99.17~104.82	15.38~22.93	91.22~104.50	7.90~21.32	85.33~98.26	5.69~16.24	
毒死蜱 Chlorpyrifos	0.005~0.50	91.19~109.1	12.91~19.08	87.33~104.32	7.88~16.14	100.47~101.81	11.34~18.51	
马拉硫磷 Malathion	0.005~0.50	94.16~94.53	19.23~23.88	99.82~105.30	10.67~20.13	75.20~95.88	8.31~18.86	
杀螟硫磷 Fenitrothion	0.01~1.00	89.57~101.44	11.81~18.86	96.19~110.01	3.69~15.71	91.14~110.70	12.71~34.39	
对硫磷 Parathion	0.005~0.50	93.06~99.10	17.61~25.13	93.86~98.92	6.73~23.23	85.63~108.55	11.16~20.34	
甲基异柳磷 ISofenphos-methyl	0.005~0.50	101.20~115.10	12.49~20.34	88.40~105.54	7.12~16.38	88.90~100.72	11.56~18.86	
水胺硫磷 Isocarbophos	0.002~0.20	84.52~100.80	15.35~20.49	90.97~97.47	5.21~24.34	96.95~102.61	12.07~12.46	
喹硫磷 Quinalphos	0.015~1.50	90.78~101.42	8.34~10.72	101.56~106.47	3.74~23.80	94.95~102.70	9.11~18.62	
辛硫磷 Phoxim	0.03~3.00	94.10~96.13	18.80~21.10	91.55~102.88	6.79~18.18	85.18~93.80	6.68~17.37	
三唑磷 Triazophos	0.005~0.50	92.06~104.35	12.50~24.22	85.75~91.82	5.75~14.09	89.63~98.67	17.17~26.62	
辣椒 Pepper		苋菜 Edible amaranth		桃 Peach		苹果 Apple		n
平均值/% Recoveries	RSD/%	平均值/% Recoveries	RSD/%	平均值/% Recoveries	RSD/%	平均值/% Recoveries	RSD/%	
89.05~92.44	4.43~9.72	80.00~100.3	14.76~20.18	95.44~106.18	7.51~19.33	86.26~105.03	8.95~24.20	9
93.53~99.63	5.62~13.16	82.00~95.73	10.18~18.36	78.35~99.13	6.94~13.35	79.58~90.49	9.98~20.83	9
84.13~107.41	5.31~12.95	83.00~92.38	19.31~23.92	76.10~83.51	7.57~18.21	63.23~97.47	5.34~12.18	9
78.43~88.88	8.55~14.18	93.20~110.90	11.82~16.98	85.20~101.45	2.60~10.86	92.35~100.38	4.61~17.68	9
88.38~106.65	10.00~23.74	79.08~103.67	9.73~14.44	88.87~110.83	7.22~16.34	77.78~88.13	10.00~14.96	9
83.00~106.65	6.69~23.74	77.70~100.54	11.16~15.39	82.67~110.83	9.91~23.73	82.12~89.25	8.69~16.48	9
97.62~113.43	5.51~17.92	78.67~102.13	2.00~13.47	88.24~108.65	9.00~16.97	82.88~91.67	11.35~25.30	9
77.11~104.52	1.60~14.05	73.67~97.94	11.20~13.17	87.90~99.03	7.12~17.95	92.81~110.88	7.23~16.52	9
84.19~106.40	6.25~17.61	77.45~91.85	11.27~16.14	88.04~107.65	5.76~20.82	82.13~92.59	4.08~14.15	9
85.50~120.50	4.68~12.32	83.56~99.90	10.90~16.35	79.11~95.29	8.77~24.30	81.70~91.11	11.99~17.97	9
83.51~98.33	2.37~10.17	82.22~114.22	6.83~15.36	89.45~95.04	10.22~12.68	84.60~115.01	8.17~20.36	9
87.45~103.11	6.81~13.24	75.53~102.83	7.71~12.23	90.74~102.13	14.96~19.00	80.78~102.58	5.52~17.07	9
88.89~94.97	6.54~19.16	78.03~84.71	10.07~16.49	101.48~103.89	9.71~15.50	89.47~100.10	16.13~20.25	9
80.50~99.12	12.45~18.38	82.20~96.81	14.10~16.23	85.43~95.09	12.23~15.31	95.15~97.86	9.07~17.23	9
91.83~106.20	6.18~13.88	86.49~94.87	6.79~11.76	70.22~87.11	6.51~10.57	88.13~95.81	8.00~17.09	9
92.09~100.07	11.45~14.30	92.43~97.95	5.72~12.51	70.30~101.60	12.91~13.38	87.23~104.12	10.54~13.89	9
84.06~96.00	15.41~17.92	77.40~92.59	6.40~11.69	85.11~95.67	9.31~13.24	74.37~100.66	16.83~20.46	9
85.18~87.53	8.85~15.44	83.03~89.90	10.61~19.58	90.76~101.45	9.59~16.40	83.15~105.14	10.17~16.87	9

进样量为横坐标, 峰面积为纵坐标, 作图。最低检出限是在色谱图上可清楚确认的分析目的物色谱峰的下限, 通常为噪音的3倍(SIG/N=3)。方法定量限

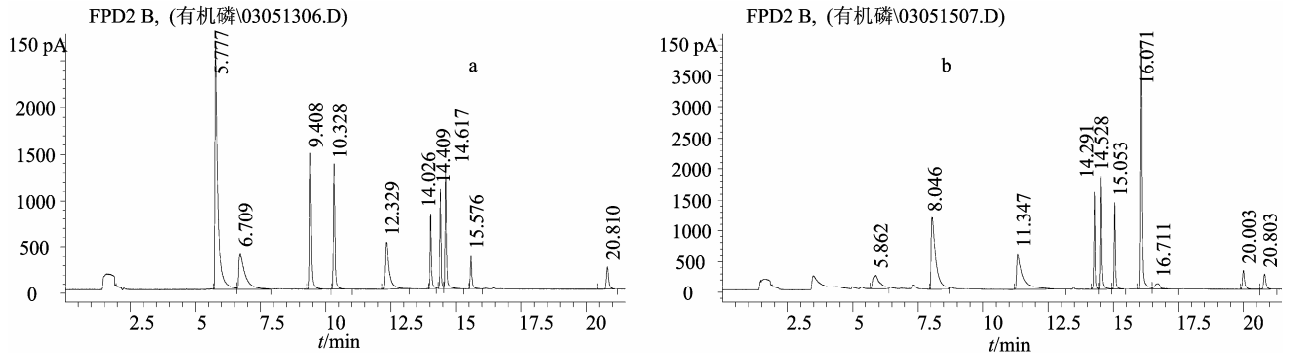
为有样品基质存在, 在与样品测定完全相同条件下, 该方法能够准确定量分析目的物的最小量或最低浓度, 通常为噪音的10倍(SIG/N=10)。本试验研究了

18 种农药最低检测限(LOD)以及定量限(LOQ), 根据标准曲线得出相应回归方程及保留时间, 见表 1。

2.2 方法的精密度和准确度

在进行添加回收实验时, 添加 3 个浓度, 2 个空白, 其中一个空白作为基质空白, 另一空白提取

后添加同量农药标准溶液, 用于计算添加回收率。利用同一批次回收率数据相对标准误差检验重复性, 利用不同批次间回收率数据相对标准误差来检验不同批次中的重现性。不同基质中添加回收率结果及重复性、重现性见表 2。



a 组: 敌敌畏(5.77 min)、甲胺磷(6.71 min)、甲拌磷(9.41 min)、二嗪磷(10.33min)、乐果(12.33 min)、甲基对硫磷(14.03 min)、马拉硫磷(14.41 min)、对硫磷(14.62 min)、水胺硫磷(15.58 min) b 组: 敌百虫(5.86 min)、乙酰甲胺磷(8.05 min)、久效磷(11.35 min)、毒死蜱(14.29 min)、杀螟硫磷(14.53 min)、甲基异柳磷(15.03 min)、啶硫磷(16.07 min)、辛硫磷(16.71 min)、三唑磷(20.80 min)

Group-a: Dichlorvos(5.77 min), Methamidophos(6.71 min), Phorate(9.41 min), Diazinon(10.33 min), Dimethoate(12.33 min), Parathion-methyl(14.03 min), Malathion(14.41 min), Parathion(14.62 min), Isocarbophos(15.58 min); Group-b: Triichlorphon(5.86 min), Acephate(8.05 min), Monocrotophos(11.35 min), Chlorpyrifos(14.29 min), Fenitrothion(14.53 min), Isefenphos-methyl(15.03 min), Quinalphos(16.07 min), Phoxim(16.71 min), Triazophos(20.80 min)

图 1 18 种有机磷杀虫剂标样气相色谱图(DB-17MS)

Figure 1 GC Chromatogram of 18 organophosphorus pesticides standard samples (DB-17MS)

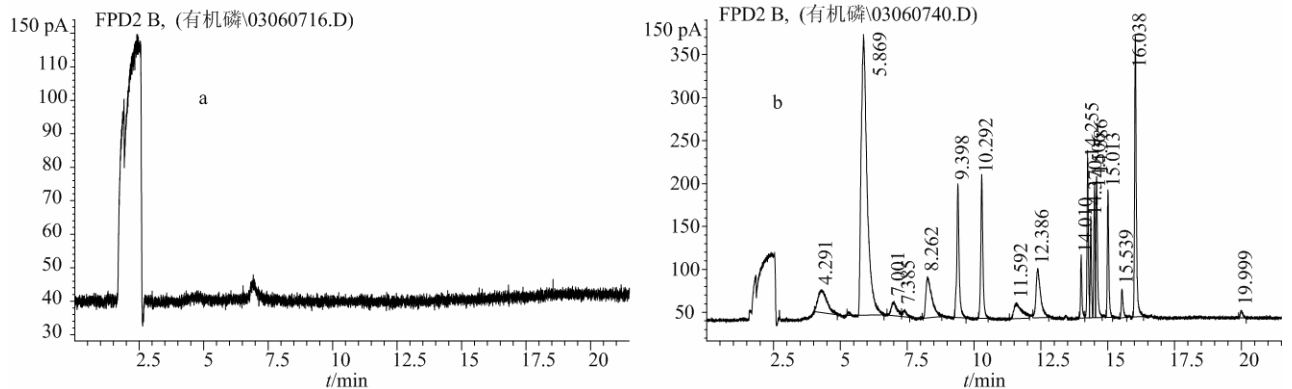


图 2 苋菜空白(a)、苋菜中 18 种有机磷农药添加回收色谱图(b)

Figure 2 GC chromatograms of (a) unspiked edible amaranth, edible amaranth spiked (b) with 18 organophosphorus pesticides

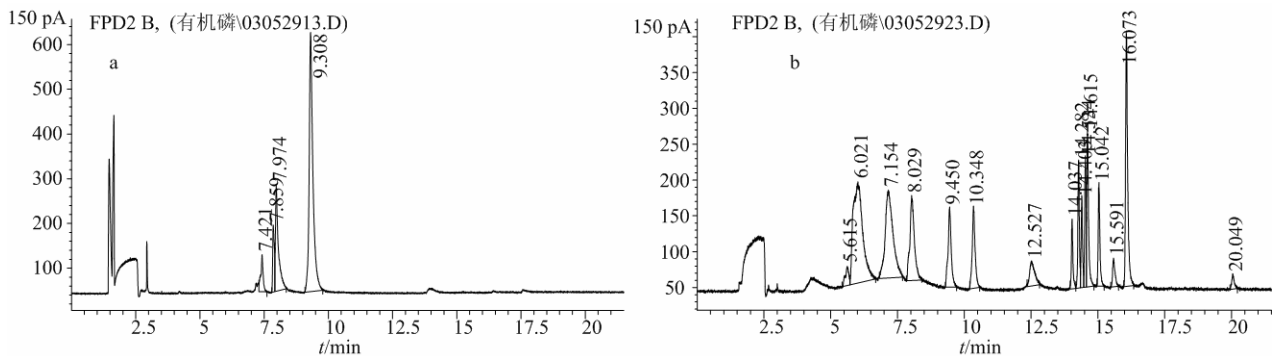


图 3 萝卜空白(a)、萝卜中 18 种有机磷农药添加回收色谱图(b)

Figure 3 GC chromatograms of (a) unspiked radish, radish spiked (b) with 18 organophosphorus pesticides

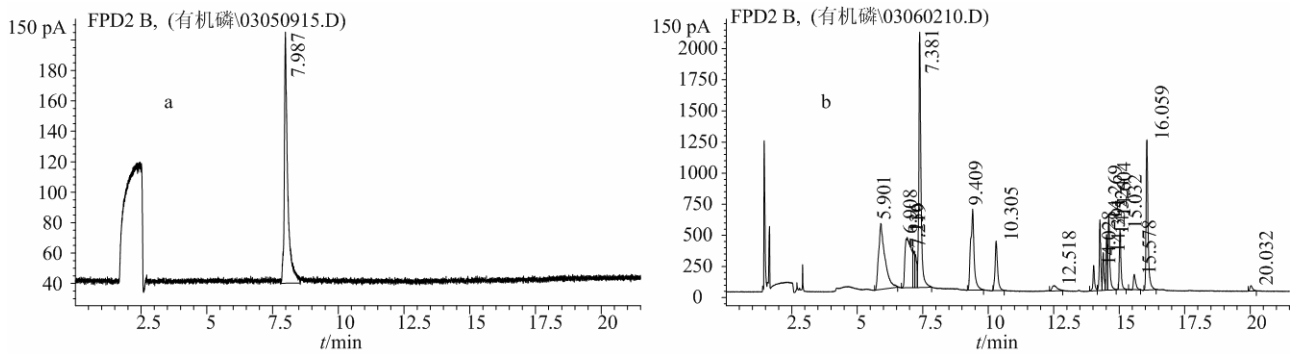


图4 苹果空白(a)、苹果中18种有机磷农药添加回收色谱图(b)

Figure 4 GC chromatograms of (a) unspiked apple, apple spiked (b) with 18 organophosphorus pesticides

图1为标液及部分保留时间放大图谱、图2为苋菜空白图谱和基质添加图谱,图3为萝卜空白图谱和基质添加图谱,图4为苹果空白图谱和基质添加图谱。青菜、辣椒、黄瓜和桃的图谱与之类似,故略去。由图可见,苋菜、萝卜等蔬菜、水果的化学成分对本方法的农药残留分析基本没有影响且农药标准溶液峰形较好,因此该实验条件可准确性、定量。

2.3 基质适用性的研究

通过对青菜、辣椒、黄瓜和桃等基质做添加回收试验,研究本方法的基质适用性,结果如表2。

3 讨论

本试验将基质进行匀浆处理,采用乙酸乙酯和无水硫酸钠,超声振荡2 min提取的上清液经过滤后,使用GC-FPD检测蔬菜和水果的农药残留。结果显示18种农药在青菜、萝卜、苋菜、辣椒、黄瓜、桃和苹果中添加回收率为70.25%~120.50%,变异系数为0.65%~30.70%;色素含量、水分及糖分含量的差异对检测结果并没有明显差异。因此本实验方法对于不同水分、色素和糖分含量的蔬菜和水果中有机磷农药残留分析具有较好的适用性,能够满足当前农药残留检测的要求。

参考文献:

- [1] 刘传德,周先学,王志新,等.我国蔬菜水果农药残留检测技术发展动向和质量安全控制对策[J].北方园艺,2010(11):210-213.
- [2] 罗亮,岳永德,汤锋,等.重要食用林产品中农药多残留快速检测方法的研究[J].安徽农业大学学报,2011,38(1):72-80.
- [3] 卢大胜,熊丽蓓,温忆敏,等.QuEChERS前处理方法联合GPC-GC/MS在测定蔬菜水果农药残留中的应用[J].质谱学报,2011,32(4):229-236.
- [4] Anast Asslades M, Lehotay S J, ST Ajnbaher D. Quick, easy, cheap, effective, rugged, and safe (QuEChERS) approach for the determination of pesticide residues[C]//18th Annual Waste Testing and Quality Assurance Symposium Proceedings. 2002: 231-241.
- [5] Schenck F J, Hobbs J E. Evaluation of the quick, easy, cheap, effective, rugged, and safe(QuEChERS) approach to pesticide residue analysis[J]. Bull Environ Contam Toxicol, 2004, 73(1): 24-30.
- [6] Hercegová A, Dömötöróvá M, Kruzlicová D. Comparison of sample preparation methods combined with fast gas chromatography-mass spectrometry for ultra trace analysis of pesticide residues in baby food[J]. J Sep Sci, 2006, 29(8): 1102-1109.
- [7] Lehotay S J. Quick, easy, cheap, rugged and safe (QuEChERS) approach for determining pesticide residues[J]. Pesticide Analysis in Methods in Biotechnology, 2004, 11: 6-9.
- [8] 赵建伟,岳永德,汤锋,等.气相色谱法测定蔬菜、水果中多种有机磷农药残留[J].安徽农业大学学报,2010,37(1):82-87.
- [9] 郝宁.蔬菜水果中16种有机磷和氨基甲酸酯农药残留检测方法研究[J].职业与健康,2012,28(2):430-432.
- [10] 王江,贾建章,刘辰,等.GC-FPD快速分析法测定蔬菜水果中25种有机磷农药残留量[J].中国卫生检验杂志,2009,10(19):2251-2253.
- [11] Anastassiades M. Recovery studies using the QuEChERS method[J]. Chemisches und Veterinäruntersuchungsamt Stuttgart, 2004, 1: 1-13.