

# 玉米中阿特拉津残留量的测定方法研究

毛应明, 王学松, 朱平华, 张成燕, 熊建军  
(淮海工学院化学工程学院, 江苏 连云港 222005)

**摘 要:** 通过综合运用微波萃取、柱层析和气相色谱氮磷检测器法分析研究玉米中阿特拉津残留量的测定方法。该方法的加标回收率为 92%~104%, 相对标准偏差(RSD)为 1.47%~4.35%, 样品中的检出限为 0.0005mg/kg。与国家标准(GB/T 5009.132 — 2003)中的测定方法相比, 本方法的样品提取时间大大缩短, 试剂用量减少, 精密度和准确度都有所提高。

**关键词:** 玉米; 阿特拉津; 测定方法; 微波萃取技术

## Residual Determination Method of Atrazine in Corn

MAO Ying-ming, WANG Xue-song, ZHU Ping-hua, ZHANG Cheng-yan, XIONG Jian-jun  
(School of Chemical Engineering, Huaihai Institute of Technology, Lianyungang 222005, China)

**Abstract:** Microwave-assisted extraction, integrated with column chromatography and gas chromatography with a nitrogen-phosphorus detector, was presented for residual determination of atrazine in corn. The recoveries of the method range from 92% to 104%. The relative standard deviation is between 1.47% and 4.35%. Compared with the method in China National Standards (GB/T 5009.132 — 2003), this is a rapid method with less solvent consumption and better precision and accuracy.

**Key words:** corn; atrazine; determining method; microwave-assisted extraction

中图分类号: TS207.53

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2008)07-0336-04

玉米有较丰富的营养和药用价值, 是世界三大粮食作物之一, 在许多发达国家被称为时髦的保健食品和“黄金”食品, 我国是世界玉米生产第二大国, 产量仅次于美国<sup>[1]</sup>。阿特拉津(atrazine)商品名为莠去津, 是玉米田最常用除草剂, 对玉米作物高度安全, 且除草效果优良。然而其性质稳定, 持效期长, 连续多年的广泛使用, 现已对生态环境造成不同程度的破坏和污染, 也对人类健康构成直接威胁<sup>[2]</sup>。研究表明, 阿特拉津能干扰激素的调节功能, 引起人和两栖动物的生殖缺陷, 诱导肿瘤发生和体重减轻<sup>[3-4]</sup>。许多国家都对阿特拉津在食品、作物、饮用水等中的残留限量作了相应规定。如美国环保局规定阿特拉津在脂肪、肉类及肉类副产品中的最高残留限量为 0.02mg/kg, 在饮用水中的最大污染物浓度(MCL)为 3  $\mu$ g/L<sup>[5]</sup>; 加拿大饮用水水质标准规定阿特拉津及其代谢物的最大接受浓度为 5  $\mu$ g/L<sup>[6]</sup>; 欧盟已将其作为饮水检测指标之一, 最高允许浓度(MAC)为 0.1  $\mu$ g/L<sup>[7]</sup>。我国的国家标准规定阿特拉津在玉米、甘蔗中含量不得超过 0.05mg/kg<sup>[8]</sup>; 在集中式生活饮用水地表水源地特定项目标准值为 0.003mg/L<sup>[9]</sup>。

关于食品中阿特拉津残留量的检测, 美国食品药品监督管理局农药残留量分析手册中有其方法简介<sup>[10]</sup>; 我国 2003 年最新颁布的国家标准<sup>[11]</sup>中也有其测定方法的描述。然而这两种方法在实际应用中都有一定的问题: 前者涉及到一些药品, 在我国应用很少且价格昂贵, 不适合日常食品监测工作; 后者在目前的实验检测中也存在如下不足: 样品预处理过程操作麻烦、耗时; 色谱条件落后, 所用仪器配件目前在实验室已不多见; 实验结果重现性差, 标准偏差较大。

本实验以国家标准提供的测定方法为基础, 结合国内外资料, 在样品的提取技术和检测手段两方面做了较大改进, 尝试用微波萃取(MAE)技术和气相色谱氮磷检测器(GC-NPD)对玉米中的阿特拉津进行测定。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与仪器

供试玉米为本地区大面积种植的郑单 958, 黄色, 从连云港市瀛州路农副产品批发市场购得。

收稿日期: 2007-08-07

基金项目: 江苏省应用化学重点学科项目(BK2005045); 淮海工学院自然科学基金项目(KK04030)

作者简介: 毛应明(1972-), 男, 实验师, 硕士, 主要从事有机污染物分析及食品科学研究。E-mail: maoyingming@yahoo.com.cn

## 1.2 试剂

阿特拉津标准样品(纯度为 98.4%) 国家农药检测中心; 二氯甲烷、氯仿、乙醚、乙腈、石油醚、氯化钠、无水硫酸钠 南京化学试剂一厂; 甲醇、正己烷、丙酮 国药集团化学试剂有限公司; 硅胶、中性氧化铝及硅镁吸附剂均为 100~200 目、层析柱、垫片中国科学院大连化学物理研究所; 实验用水为蒸馏水。除阿特拉津都为分析纯。

有机溶剂用前经重蒸馏; 硅胶经恒温干燥箱中 130℃ 下烘 24h, 在干燥器中冷却至室温后, 加 1.5% 去离子水部分减活; 层析用中性氧化铝经恒温干燥箱 105℃ 下烘 4h, 于干燥器中冷却至室温, 加 2% 去离子水降活, 混匀后密封, 放置 12h 后备用; 硅镁吸附剂经 550℃ 灼烧 3h, 于干燥器中冷却至室温, 加 5% 去离子水减活, 混匀平衡过夜后备用。

## 1.3 仪器

HP6890 气相色谱仪[配氮磷检测器(NPD)、HP7683 自动进样器和 HP 化学工作站(Hewlett-Packard)] 美国 Agilent 公司; XH-100A 电脑微波萃取仪及相应配件 北京祥鹤科技发展有限公司; DHG-9240A 电热鼓风干燥箱 浙江舟山定海区海源仪器厂; DJ-04B 固体样品粉碎机 上海淀久中药机械制造有限公司; SHA-C 水浴恒温振荡器 江苏金坛市金城国胜实验仪器厂; SIGMA2-16K 高速离心机 德国 Sigma 公司; RE-3000 旋转蒸发器 上海亚荣生化仪器厂; SHB-D 循环水真空泵 浙江舟山定海区海源仪器厂。

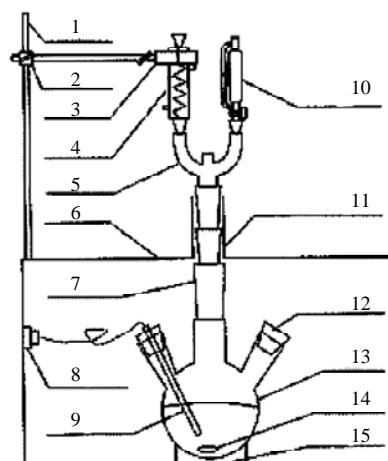
## 1.4 分析方法

### 1.4.1 提取

玉米样品经烘干、粉碎并通过 20 目筛后, 称取 10g 玉米粉(精确到 0.1mg), 装入 100ml 三口烧瓶中, 加入搅拌磁子, 将其平稳放在聚四氟乙烯垫圈上, 置于电脑微波萃取仪炉腔中央, 然后按要求接入温度传感器、三通玻璃管、球形冷凝器和滴液漏斗等配件。安装示意图如图 1 所示。加入适量溶剂后, 按一定条件(时间、温度、功率)在微波萃取仪中进行常压提取, 待挥发出的溶剂被冷凝回流后, 取出用冷水冷却至室温。

实验同时, 另称取 50g 玉米粉按国家标准中的电动振荡提取(MSE)方法进行提取分析。

提取结束后, 经快速定性滤纸抽滤, 用 50ml 蒸馏水洗涤三口烧瓶和滤渣, 滤液合并转入 250ml 分液漏斗中, 称取 5g 氯化钠加入分液漏斗并摇匀溶解, 用二氯甲烷-石油醚(3.5:6.5)混合溶剂振摇提取三次, 每次用量 20ml, 振摇 1min, 合并上层提取液, 经盛有 10g 无水硫酸钠的漏斗滤入 100ml 梨形瓶中, 用少量二氯甲烷分多次洗涤漏斗及其内容物, 洗液并入滤液。经旋转蒸发器浓缩至 2ml 左右, 用氮气吹干溶剂。



1.后立柱; 2.十字转接夹; 3.试管夹; 4.冷凝管; 5.玻璃三通管; 6.内腔; 7.玻璃转接头; 8.传感器接头; 9.传感器; 10.加液器; 11.波导截止管; 12.瓶塞; 13.实验容器; 14.磁子; 15.垫圈。

图1 提取装置示意图

Fig.1 Sketch map of extraction device

## 1.4.2 净化

### 1.4.2.1 石油醚-乙腈分配

提取后的样品在用氮气吹干时发现含有少量淡黄色油状物质, 这些物质会严重干扰色谱仪的测定, 因此需要对其进行二次分配。用 30ml 石油醚分数次洗涤装有提取物的梨形瓶后, 转入 125ml 分液漏斗中, 再用 20ml 石油醚饱和的乙腈洗涤梨形瓶 2~3 次后转入该分液漏斗中, 振摇提取 1min, 静止分层, 将下层乙腈转入另一 100ml 梨形瓶内, 再用 20ml 石油醚饱和的乙腈提取石油醚层一次, 振摇 1min, 合并乙腈层, 于 50℃ 旋转蒸发器浓缩至 2ml 左右, 用氮气吹干溶剂。用 10ml 石油醚溶解残留物, 供柱层析用。

### 1.4.2.2 柱层析净化

在 25ml 内径为 2cm 的层析柱中从下到上依次装入: 垫片-10g 吸附剂-垫片-2g 无水硫酸钠-垫片, 压实后用 30ml 石油醚加压预淋洗柱子以吹赶出气体。将提取浓缩液小心转移至层析柱中并用 50ml 乙醚-石油醚(1+2)淋洗, 淋洗液分数次洗涤装有残留物的梨形瓶后, 再转入层析柱中, 洗脱速度 0.5~1ml/min。收集全部淋出液于另一 100ml 的梨形瓶, 经 50℃ 旋转蒸发器浓缩至 2ml 左右, 用氮气吹干溶剂, 最后以 2ml 正己烷溶解残留物, 待色谱仪测定。

实验过程中同时做三个平行样品和一个空白样品。

## 1.5 色谱条件

色谱柱: SPB-50 型(30m × 0.25mm, 0.25 μm)毛细管柱(美国 Supelco 公司); 检测器: 氮磷检测器(NPD), 温度为 290℃; 气体流速: 氮气 22.4ml/min(载气), 氢

气 4.0ml/min, 空气 60ml/min; 柱前压 50kPa; 升温程序: 初始炉温为 60℃, 以 50℃/min 升到 180℃, 保持 1min, 再以 15℃/min 升到 225℃, 保持 1min, 然后再以 20℃/min 升到 257℃, 保持 1min; 进样口温度: 250℃; 进样量: 0.5 μl (不分流进样)。

## 2 结果与分析

### 2.1 标准曲线的测定

以正己烷为溶剂, 分别配制浓度为 0.00、0.20、0.40、0.60、0.80、1.00 μg/ml 的标准溶液, 在上述色谱操作条件下进样, 得到阿特拉津标准样品色谱图。通过测定不同浓度的标准溶液, 利用外标(峰面积)-标准曲线法进行定量分析, 得到阿特拉津峰面积(Y)随进样量(X)变化的线性方程为:  $Y=169.71X-0.5238$ ,  $R^2=0.9999$ , 线性关系好, 符合测定要求。

### 2.2 提取溶剂的选择

阿特拉津在水中溶解度极小, 但易溶于甲醇、氯仿等有机溶剂。根据微波萃取中对溶剂的选择要求<sup>[12]</sup>, 对于一般固体试样, 常选用极性溶剂, 同时还要求溶剂对分离成分有较强的溶解能力, 对萃取成分的后续操作干扰较少。在实验过程中我们用甲醇、氯仿、丙酮等作溶剂时发现, 提取物中色素等杂质含量较多, 难于净化, 由于氯仿毒性大, 采用不同比例的甲醇-水和丙酮-水进一步试验, 对提取效率和溶剂萃取的乳化情况进行比较可得出, 甲醇-水(1:1)是较为合适的提取溶剂。

### 2.3 吸附剂及洗脱液用量的确定

层析柱中常用的吸附剂有硅胶、中性氧化铝、活性炭、硅酸镁等, 由于活性炭主要用于分离水溶性成分, 故不能用于阿特拉津的净化。在淋洗液为乙醚-石油醚(1:2)时, 为了得到一种最适合的吸附剂, 以正己烷为溶剂配制 1.0 μg/ml 的阿特拉津标准溶液对填充物为硅胶、中性氧化铝、硅镁吸附剂等的层析柱进行洗脱试验, 分段收集洗脱液, 按分析步骤进行测定, 所得结果如表 1 所示。

表 1 不同吸附剂的洗脱液用量试验结果

Table 1 Determination results of eluent volumes for different adsorbents

淋洗液 用量(ml)	硅胶		中性氧化铝		硅镁吸附剂	
	洗脱效率(%)	累积洗脱效率(%)	洗脱效率(%)	累积洗脱效率(%)	洗脱效率(%)	累积洗脱效率(%)
0~20	0	0	0.3	0.3	0	0
20~40	0.2	0.2	20.5	20.8	2.8	2.8
40~60	8.7	8.9	33.1	53.9	64.2	67.0
60~80	12.5	21.4	44.4	98.3	30.6	97.6
80~100	25.1	46.5	1.6	99.9	1.5	99.1
100~150	45.3	91.8	0	99.9	0.8	99.9

由表 1 可知, 硅胶对阿特拉津具有较强的吸附作用, 用乙醚-石油醚(1:1)洗脱较为困难, 比较起来, 中性氧化铝和硅镁吸附剂都是较好的层析柱填充物, 但从经济角度考虑, 选择价廉的硅镁吸附剂则更为合适。

### 2.4 微波萃取参数的确定

微波萃取操作中, 影响萃取效果的因素很多, 包括物料特性、溶剂种类、萃取时间、萃取温度、萃取功率和操作压力等, 而各种工艺参数之间往往是交互作用的, 很难直接确定出单个参数的最佳值。Guo Zhen-ku 等<sup>[13]</sup>认为, 萃取溶剂、微波作用时间、温度、操作压力对萃取效果的影响较大。根据前面的结论, 甲醇-水(1:1)是较为合适的提取溶剂; 所用仪器为恒压萃取仪。因此, 主要考察溶剂用量、萃取温度、时间和加热功率等四个因素对回收率的影响。当农药添加量为 0.05mg/kg 时, 按  $L_9(3^4)$  正交试验所得的回收率检测结果见表 2。

表 2 微波萃取阿特拉津正交试验结果

Table 2 Results of orthogonal test design of microwave-assisted extraction of atrazine

试验 编号	溶剂用 量(ml)	设定温 度(℃)	辐射时 间(min)	加热功 率(W)	平均回 收率(%)	RSD (%)
1	50	80	5	650	78.6	7.34
2	50	90	10	750	87.2	6.86
3	50	100	15	850	79.1	4.76
4	70	80	10	850	93.3	5.53
5	70	90	15	650	89.5	3.89
6	70	100	5	750	88.0	2.95
7	90	80	15	750	95.4	3.02
8	90	90	5	850	98.7	3.10
9	90	100	10	650	78.3	6.51

根据回收率测定结果以及对各工艺条件的综合评价, 最终的优化参数条件为: 溶剂用量 90ml, 设定温度 90℃, 辐射时间 5min, 加热功率 850W。对比国家标准中所采用的电动振荡提取法, 提取时间由 1h 缩短为 5min, 提取溶剂 200ml 减少到 90ml, 提取出的油状杂质也明显较少。

### 2.5 加标回收率实验

称取 10.0g 空白玉米粉样品若干份, 分别添加 0.10、0.50、1.00 μg/ml 的阿特拉津标准溶液 1.0ml, 充分混合均匀后, 按上述优化的处理方法和国家标准方法进行提取、净化后, 测定阿特拉津的回收率, 测定结果如表 3 所示。采用这种方法测得阿特拉津的平均回收率为 92%~104%, 相对标准偏差为 1.47%~4.35%, 均优于国家标准方法的测定结果。

表3 阿特拉津在玉米中的添加回收率检测结果

Table 3 Determination results of recoveries of atrazine in spiked corn

提取方法	添加水平 (mg/kg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
MAE	0.01	104,102,105	104	1.47
	0.05	98,102,96	99	3.10
	0.10	88,92,96	92	4.35
MSE	0.01	93,88,95	92	3.92
	0.05	85,86,93	88	4.95
	0.10	78,93,90	87	9.12

## 2.6 方法的准确度和精密度

在所述的色谱条件下,阿特拉津的保留时间约为7.786min,在玉米加标样品与标准溶液中的峰值比较吻合。表3的结果也表明,回收率和相对标准偏差完全能够满足常规分析方法的要求。按色谱峰高是基线噪声高度3倍计算,此方法阿特拉津的最小检出量为0.005ng,样品中最小检出量为0.0005mg/kg,大大低于国家标准所提供方法的检出限(0.03mg/kg)。

## 3 结 论

微波辅助提取法适用于玉米中阿特拉津的提取,与国家标准中所使用的电动振荡提取法相比,样品提取时间缩短,试剂用量减少,产品的提取率也比较高。选择甲醇-水(1:1)作为提取溶剂,得到较高的提取效率和更少量的色素类杂质;用硅镁吸附剂进行柱层析净化,具有较高的洗脱效率且较为经济;而气相色谱氮磷检测器对阿特拉津也具有更高的灵敏度。采用此方法比国家标准所提供的方法还具有更高的准确度和精密度。因此,在方法的改进上取得了较为满意的效果。

## 参考文献:

- [1] 刘兴波,杨克明. 浅谈发展玉米经济[J]. 中国工程咨询, 2006, 7(3): 19-20.
- [2] 毛应明,蒋新,王正萍,等. 阿特拉津在土壤中的环境行为研究进展[J]. 环境污染治理技术与设备, 2004, 5(12):11-15.
- [3] SINGH P, SURI C R, CAMEOTRA S S. Isolation of a number of *Acinetobacter* species involved in atrazine degradation[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2004, 317: 697-702.
- [4] WILHELMS K W, FITZPATRICK K F, SCANES C G, et al. In ovo exposure to a triazine herbicide: effects of atrazine on circulating reproductive hormones and gonadal histology in young Japanese quail[J]. Arch Environ Contam Toxicol, 2006, 51: 117-122.
- [5] MANSKE M K, BELTZ L A, DHANWADA K R. Low-level atrazine exposure decreases cell proliferation in human fibroblasts[J]. Arch Environ Contam Toxicol, 2004, 46: 438-444.
- [6] BESPLUG J, FILKOWSKI J, BURKE P, et al. Atrazine induces homologous recombination but not point mutation in the transgenic plant-based biomonitoring assay[J]. Arch Environ Contam Toxicol, 2004, 46: 296-300.
- [7] VELA N, NAVARRO N, GIMENEZ J, et al. Gradual fall of s-triazine herbicides in drinking and wastewater samples as influenced by light and temperature[J]. Water Air and Soil Pollution, 2004, 158: 3-19.
- [8] GB2763—2005 食品中农药最大残留量[S]. 北京: 中国标准出版社, 2005: 5-6.
- [9] GB3838—2002 地表水环境质量标准[S]. 北京: 中国标准出版社, 2002.
- [10] FDA-PAM 美国食品药品监督管理局. 农药残留量分析手册[M]. 国家商检局 FDA-PAM 编译组译. 长沙: 湖南科学技术出版社, 1990: 9-11.
- [11] GB/T 5009.132—2003 食品中莠去津残留量的测定[S]. 北京: 中国标准出版社, 2004: 153-157.
- [12] 郝金玉,黄若华,王平艳,等. 微波萃取技术进展[J]. 云南化工, 1999, 26(3): 26-29.
- [13] GUO Z K, JIN Q H, FAN G Q, et al. Microwave assisted extraction of effective constituents from a Chinese herbal medicine radix puerariae[J]. Analytica Chimica Acta, 2001, 436: 41-47.