

蔬菜中高毒有机磷农药多残留的检测方法研究

陈浩¹, 柳训才¹, 李胜清¹, 陈智东²

(华中农业大学理学院, 湖北 武汉 430070; 湖北省农科院测试中心, 湖北 武汉 430064)

摘 要: 采用 J & WDB-1701 型毛细管色谱柱及 FPD 检测器, 建立了同时测定蔬菜中高毒有机磷农药甲胺磷、甲拌磷、氧乐果、毒死蜱、甲基对硫磷、对硫磷残留量的气相色谱法, 测定 6 种有机磷农药残留量的线性范围均为 0.05~5.00mg/L, 相关系数为 0.99868~0.99952, 检出限为 0.0184~0.0396mg/L, 加标回收率为 74.4%~98.7%, 相对标准偏差为 4.72%~2.17%。

关键词: 固相萃取 - 气相色谱; 有机磷农药; 蔬菜; 测定

Method for Multiresidue Determination of High Acute Toxicity Organophosphorous Pesticides in Vegetables

CHEN Hao¹, LIU Xun-cai¹, LI Sheng-qing¹, CHEN Zhi-dong²

(1.College of Sciences, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China;

2.Testing Center, Hubei Academy of Agricultural Science, Wuhan 430064, China)

Abstract: A method which combined solid phase extraction (SPE) and gas chromatography for multi-residue determination of organophosphorous pesticides in vegetables was discussed in this paper. Methamidophos, phorate, omethate, chlorpyrifos, parathion-methyl and parathion were selected as the analytic targets representing toxic organophosphorous pesticides. Satisfactory results could be obtained as the recoveries were greater than 80%, the entire analytic time was no longer than 1h, and the detection limit ranged from 0.0184 mg/L to 0.0396mg/L. The method discussed could be applied for quick and accurate determination of organophosphorous pesticides in vegetables.

Key words: organophosphorous pesticides; multi-residue determination; SPE-GC; vegetables

收稿日期: 2004-09-06

作者简介: 陈浩(1963-), 男, 副教授, 硕士, 研究方向为现代农业分析、食品安全分析和药物分析。

要求。上述对牛奶中 TCs 残留的检测方法净化效果稳定、重现性好、2 倍定量检测下限添加浓度的回收率在 75% 以上, 且满精密度足要求。

参考文献:

- [1] Hisao O, Yoko I, Hiroshi M. Chromatographic analysis of tetracycline antibiotics in foods[J]. J of Chromatography A, 2000, 882:109-133.
- [2] 于世林. 高效液相色谱方法及应用[M]. 北京: 化学工业出版社, 2001. 85-87.
- [3] Diana S A, Randall G, Pankaj K, Application of ELISA in

determining the fate of tetracyclines in land-applied livestock wastes[J]. Analyst, 2003, 128: 658-662.

- [4] Rogstad A. Optimal SPE-HPLC determination for oxytetracycline residues in fish tissue[J]. J Liquid Chromatography, 1988(11): 2337-2347.
- [5] Maria T, Pantelis R, Panayiotis P, et al. Determination of oxytetracycline in the live fish feed Artemia using high-performance liquid chromatography with ultraviolet detection [J]. J of Chromatography B, 1995, 663: 167-171.
- [6] 张素霞, 李俊锁, 钱传范. 牛奶中四环素多残留分析方法研究-MSPD-HPLC-UV[J]. 畜牧兽医学报, 2002, 33(1): 51-54.

中图分类号: TS207.53

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2005)03-0204-05

农药由于具有高效、速效、方便、适应性广、经济效益显著等特点而被广泛应用于蔬菜生产、采后保鲜等产销过程。长期大量地使用农药,在得到效益的同时,也产生了广泛的副作用。大量残留在蔬菜上的农药不仅对人体产生直接毒害,引起急性中毒或导致农药在人体内的积累和富集,从而引发各种疾病,而且还导致有害物质对生态环境造成严重的污染与危害。饮食中农药残留量过高而引发的食物中毒事故也频繁发生。因此,如何切实有效地控制、监测农药污染,成为人们最为关心的问题,也引起了政府的高度重视。

我国的农药残留分析技术始于20世纪50年代,近年来取得了重要进展。在试剂速测误差较大,社会农药残留检测点纷纷筹建的情况下,建立行之有效的有机磷检测方法显得尤为迫切。目前对蔬菜中有机磷农药的检测方法主要有通过综合运用多残留分析技术^[1,2]和固相萃取-气相色谱技术^[3~5]。本文本着指导、适用、简便、快速的思想,对蔬菜中有机磷农药的检测方法进行了探索,通过综合运用多残留分析技术和固相萃取-气相色谱联用技术,对以甲胺磷、甲拌磷、氧乐果、毒死蜱、甲基对硫磷、对硫磷为代表的高毒有机磷农药进行试验,取得了较好的效果。运用本法进行检测分析,耗时短,回收率高,检测限低。

1 材料与方法

1.1 试剂和仪器

1.1.1 试剂

甲胺磷、甲拌磷、氧乐果、毒死蜱、甲基对硫磷、对硫磷标准样,以上试剂均为1000mg/L,由农业部环境监测总站提供;丙酮、乙腈、乙酸乙酯、甲醇、正己烷、三氯甲烷、氯化钠、无水硫酸钠,以上试剂均为分析纯,545助滤剂。

1.1.2 仪器

粉碎机、高速匀浆机、旋转蒸发仪、氮吹仪、旋转震荡器、SUPELCO的DL固相萃取仪、SUPELCO的3ml ENVI-Carb SPE Tubes和ENVI-18 SPE Tubes、Agilent公司生产的3ml Amino SPE Tubes和ODS-C18 SPE Tubes、Agilent的6890N气相色谱仪(带FPD检测器和自动进样器),以及其它的常规玻璃仪器。

1.1.3 气相色谱工作条件

J & WDB-1701型毛细管色谱柱: 0.53mm × 15m, 膜厚1.0μm; 进样口温度: 210℃; 柱温: 程序升温, 150℃+10℃/min × 6min, 在210℃保留4min; 检测器温度: 240℃; 载气流量: H₂ 150 ml/min, N₂ 5ml/min,

空气 110ml/min。

1.2 操作步骤

1.2.1 标准溶液的配制

准确量取甲胺磷、甲拌磷、氧乐果、毒死蜱、甲基对硫磷、对硫磷的标准溶液各100μl于10.00ml容量瓶,以丙酮定容,充分摇匀,即制得含量均为10.00mg/L的标准样。

1.2.2 样品的前处理

称取切碎混匀的菜样25.00g于250ml烧杯中,加入提取剂50ml和545助滤剂1.0g,匀浆2min。浆液以砂芯漏斗加滤纸一层减压过滤,残渣再以30ml提取剂分次洗涤,合并滤液,并转移至分液漏斗中。向漏斗中加入5~10g氯化钠,剧烈振荡3min,静置0.5~1h后分液。取有机相过盛有30g无水硫酸钠的层析柱进行干燥,并以20ml提取剂分三次进行洗涤。将提取液转至茄型烧瓶,并于旋转蒸发器上于45℃下蒸发至1ml左右,将残液转移至带刻度的试管中,并以少量丙酮多次清洗,使合并后总量不超过10ml。并于氮吹仪上在45℃下吹至近干。加丙酮1.0ml溶解残渣,过SPE柱(先以5ml丙酮预洗),再以2 × 2ml的丙酮洗涤试管,洗液过柱,收集所有流出组分,定容至5.00ml。

1.2.3 仪器检测

设置好气相色谱仪的各工作参数,待基线稳定后即可启动自动进样装置进行检测。

1.2.4 计算

按峰面积进行定量分析。

2 结果与讨论

2.1 SPE柱及淋洗剂的选择

在蔬菜的高毒有机磷农药残留分析当中,因各种农药的理化性质不尽相同,为了得到一种能对大多数农药的分析都起到较好作用的SPE柱和响应的洗脱剂,本文以4.00mg/L标准溶液对ENVI-Carb柱、ENVI-18柱、ODS-C₁₈柱和Amino柱与丙酮、甲醇、乙酸乙酯进行正交实验,所得结果如表1。

从实验数据可知: ENVI-Carb柱对甲拌磷有强烈的吸附作用,用试验洗脱剂无法进行有效的解吸,且此柱对其它农药也有较强的吸附作用。故在未找到其它的洗脱剂之前, ENVI-Carb柱不宜用于农残分析中对提取液的净化。 ENVI-18柱、ODS-C₁₈柱和Amino柱在以丙酮为洗脱剂的条件下对六种农药的回收率均较高,其中以ENVI-18柱最好, Amino柱次之, ODS-C₁₈略差。考虑到ENVI-18柱对提取液的净化效果不如Amino柱好,因

此, 选取 Amino 柱并以丙酮为洗脱剂, 可以取得回收率与净化效果之间的最佳平衡。

2.2 淋洗剂用量的选择

由表 1 的数据和结论可知, 对选取的 Amino 柱, 以丙酮为淋洗剂其效果最好。在保证回收率不变的前提下, 为了尽量减少有机溶剂的使用, 并防止大量的杂质也被洗脱出来, 因此有必要对淋洗剂的用量进行确定。

在试验中, 以 4.00mg/L 的标准样过 Amino 柱, 以丙酮为淋洗剂, 对六种农药分别做回收曲线, 结果如图 1 所示。由图可得出结论: 甲胺磷、甲拌磷、氧乐果、毒死蜱、甲基对硫磷、对硫磷六种农药过 Amino 柱, 以丙酮为淋洗剂, 淋洗液的用量只需 3ml, 即可洗脱完全。

2.3 提取剂的选择

对于提取剂, 国外的报道中, 比较普遍地使用乙腈, 在国内也有不少关于使用混合试剂的报道, 本文分别以乙腈、乙酸乙酯、三氯甲烷、V 丙酮: V 乙酸乙酯 =1:1 的混合试剂(A)、V 丙酮: V 乙酸乙酯 =1:2 的混合试剂(B)为提取剂,

对蔬菜样品均添加相同浓度的甲胺磷、甲拌磷、氧乐果、毒死蜱、甲基对硫磷、对硫磷的混合标准溶液, 按实验方法进行测定, 并计算测定值和回收率, 所得结果如表 2。

从表 2 中数据可知: 对于不同的农药, 各提取剂各有所长, 如 V 丙酮: V 乙酸乙酯 =1:1 的混合试剂对甲基对硫磷的提取效果较其它提取剂好, 而 V 丙酮: V 乙酸乙酯 =1:2 的混合试剂对甲胺磷的提取效果也好于其它提取剂。对甲基对硫磷而言, 各提取剂的提取效果无明显差别。从六种农药总的回收效果来考虑, 乙腈要明显优于其它提取剂, 虽然对个别农药其提取效果不是最好。

2.4 工作曲线及检测限

配制甲胺磷、甲拌磷、氧乐果、毒死蜱、甲基对硫磷、对硫磷浓度均为 0、0.02、0.05、0.2、0.5、2、5mg/L 的系列标准工作溶液, 在色谱条件下, 进样进行检测。以峰面积 A 对相应被测组分的浓度 C 进行线性回归, 绘制工作曲线, 以 3 倍信噪比计算检出限, 结果见表 3。

表 1 SPE 柱及洗脱剂的选择
Table 1 Slection of SPE columns and efluent

SPE Tubes	农药 名称 Pesticides	加入量 Added (mg/L)	丙酮 Acetone		甲醇 Methanol		乙酸 Ethyl acetate	
			测定量 Found (mg/L)	回收率 Recovery (%)	测定量 Found (mg/L)	回收率 Recovery (%)	测定量 Found (mg/L)	回收率 Recovery (%)
ENVL-Carb Tubes	甲胺磷 Methamidophos	4.00	2.1360	53.40	1.0384	25.96	1.4468	36.17
	甲拌磷 Phoratez	4.00	0	0	0	0	0	0
	氧乐果 Omethoate	4.00	3.2976	82.44	1.4168	35.42	2.2636	56.59
	毒死蜱 Chlorpyrifos	4.00	0.2744	6.86	0	0	2.2204	55.51
	甲基对硫磷 Parathion-methyl	4.00	2.0384	50.96	0	0	1.8480	46.20
	对硫磷 Parathion	4.00	2.4404	61.01	0	0	2.3580	58.95
	甲胺磷 Methamidophos	4.00	3.609	90.24	2.3256	58.14	3.3728	84.32
	甲拌磷 Phorate	4.00	3.8996	97.49	1.3984	34.96	1.3340	33.60
ENVL-18 Tubes	氧乐果 Omethoate	4.00	3.6876	92.19	2.6076	65.19	3.2776	81.94
	毒死蜱 Chlorpyrifos	4.00	3.9860	99.65	3.8492	96.23	3.6656	91.64
	甲基对硫磷 Parathion-methyl	4.00	3.9960	99.90	3.6580	91.45	3.6440	91.10
	对硫磷 Parathion	4.00	3.9848	99.62	4.0592	101.48	3.7940	94.85
	甲胺磷 Methamidophos	4.00	3.2308	80.77	0.0824	2.06	3.3732	84.33
ODS-C18 Tubes	甲拌磷 Phorate	4.00	3.2424	81.06	1.3588	33.97	1.7816	44.54

续上表

SPE Tubes	农药 名称 Pesticides	加入量 Added (mg/L)	丙酮 Acetone		甲醇 Methanol		乙酸 Ethyl acetate	
			测定量 Found (mg/L)	回收率 Recovery (%)	测定量 Found (mg/L)	回收率 Recovery (%)	测定量 Found (mg/L)	回收率 Recovery (%)
Amino Tubes	氧乐果 Omethoate	4.00	3.0052	75.13	0	0	2.5808	64.52
	毒死蜱 Chlorpyrifos	4.00	3.2356	80.89	3.1176	77.94	3.7672	94.18
	甲基对硫磷 Parathion-methyl	4.00	3.2028	80.52	3.2600	81.50	3.5784	89.46
	对硫磷 Parathion	4.00	3.2340	80.85	3.3520	83.80	4.0000	100.00
	甲胺磷 Methamidophos	4.00	3.4948	87.37	0.9124	22.81	0	0
	甲拌磷 Phorate	4.00	3.8736	96.84	0.0600	1.50	0	0
	氧乐果 Omethoate	4.00	3.5936	89.84	0.6068	15.17	0	0
	毒死蜱 Chlorpyrifos	4.00	3.9868	99.67	1.0240	25.60	0.6388	15.97
	甲基对硫磷 Parathion-methyl	4.00	3.8852	97.13	1.0548	26.37	0.9928	24.82
	对硫磷 Parathion	4.00	3.9544	98.86	1.7472	43.68	1.5458	38.64

表 2 提取剂的加标回收结果
Table 2 Determination results and recoveries of different abstraction agents

农药名称 Pesticides	乙腈 Acetonitrile		乙酸乙酯 Ethyl acetate		三氯甲烷 Chloroform		混合剂 A Mixed A		混合剂 B Mixed B	
	测定值 Found (mg/L)	回收率 Recovery (%)	测定值 Found (mg/L)	回收率 Recovery (%)	测定值 Found (mg/L)	回收率 Recovery (%)	测定值 Found (mg/L)	回收率 Recovery (%)	测定值 Found (mg/L)	回收率 Recovery (%)
甲胺磷 Methamidophos	1.822	91.1	1.266	63.3	0.848	42.4	1.320	66.6	1.883	94.4
甲拌磷 Phorate	1.781	89.0	1.475	73.8	0.991	49.6	1.364	68.2	1.483	74.2
氧乐果 Omethoate	1.783	89.2	1.047	52.4	1.563	78.2	1.265	63.2	1.171	58.6
毒死蜱 Chlorpyrifos	1.892	94.6	1.342	67.1	1.218	60.9	1.911	95.6	1.546	77.3
甲基对硫磷 Parathion-methyl	1.895	94.8	1.860	93.0	1.728	86.4	2.124	106.2	1.989	99.5
对硫磷 Parathion	1.971	98.6	1.518	75.9	1.232	61.6	1.890	94.0	1.725	86.2

注：1、以上每个样品的加标浓度均为 2mg/L；2、混合剂 A 为 V 丙酮：V 乙酸乙酯=1:1 的混合试剂，混合剂 B 为 V 丙酮：V 乙酸乙酯=1:2 的混合试剂。

2.5 加标回收试验

取蔬菜样品，分别添加不同浓度的甲胺磷、甲拌磷、氧乐果、毒死蜱、甲基对硫磷、对硫磷的混合标准溶液，按实验方法进行测定，并计算回收率和相对标准偏差，结果见表 4。

由表 4 可知，本方法的加标回收率为 74.4%~98.7%，相对标准偏差为 4.72%~2.17%，表明本方法的准确度和精密度较高。

3 结 论

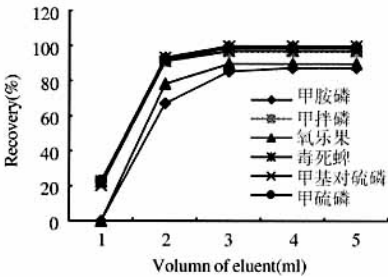


图 1 以丙酮为淋洗剂的洗脱曲线
Fig.1 Elution curve with acetone as effluent

表 4 加标回收试验结果 (n=7)
Table 4 Determination results and recoveries (n=7)

农药名称 Pesticides	加入量 Addition 0.02 mg/L			加入量 Addition 0.20mg/L			加入量 Addition 2.00mg/L		
	测定值 Found	回收率 Recovery	RSD	测定值 Found	回收率 Recovery	RSD	测定值 Found	回收率 Recovery	RSD
	(mg/L)	(%)	(%)	(mg/L)	(%)	(%)	(mg/L)	(%)	(%)
甲 胺 磷 Methamidophos	0.0173	86.5	4.72	0.1776	88.8	3.41	1.8234	91.2	2.53
甲 拌 磷 Phorate	0.0148	74.4	4.37	0.1683	84.2	3.27	1.7833	89.2	2.39
氧 乐 果 Omethoate	0.0170	85.0	4.16	0.1780	89.0	3.08	1.8354	91.8	2.34
毒 死 蜱 Chlorpyrifos	0.0176	88.0	3.75	0.1895	94.8	2.65	1.9033	95.2	2.26
甲基对硫磷 Parathion-methyl	0.0175	88.0	3.35	0.1874	93.7	2.43	1.8909	94.6	2.17
对 硫 磷 Parathion	0.0187	94.0	3.74	0.1968	98.4	2.56	1.9736	98.7	2.23

表 3 工作曲线及检测限
Table 3 Calibration curve and corresponding detection limit

农药名称 Pesticides	线性范围 Linear	线性回归方程 Calibration	相关系数 RSD	检测限 DL
	(mg/L)	range	curve	(mg/L)
甲 胺 磷 Methamidophos	0.05~5.00	A=1311.89844C-97.122578	0.99868	0.0184
甲 拌 磷 Phorate	0.05~5.00	A=717.798611C-36.427847	0.99952	0.0248
氧 乐 果 Omethoate	0.05~5.00	A=937.940972C-62.868507	0.99918	0.0222
毒 死 蜱 Chlorpyrifos	0.05~5.00	A=1368.76302C-52.542682	0.99924	0.0197
甲基对硫磷 Parathion-methyl	0.05~5.00	A=826.177083C-34.414479	0.99896	0.0338
对 硫 磷 Parathion	0.05~5.00	A=790.888889C-21.177778	0.99913	0.0396

通过综合运用多残留分析技术和固相萃取-气相色谱联用技术,检测以甲胺磷、甲拌磷、氧乐果、毒

死蜱、甲基对硫磷、对硫磷为代表的高毒有机磷农药,本方法具检测限较低,灵敏度、准确度和精密度均较高的特点,符合农药残留分析的要求,能够很好地适用于蔬菜中有机磷农药的检测。

参考文献:

[1] 潘康标,等.蔬菜中7种有机磷农药残留检测[J].现代农药,2003,2(4):16.
[2] 中华人民共和国国家标准.食品中有机磷农药残留的测定方法(GB/T5009.20-2000).
[3] 郭江峰,孙锦荷.固相萃取技术的原理及应用[J].农药科学与管理,1997,64(4):14.
[4] 黄骏雄.固相萃取与液相色谱连用对生物基质的分离技术[J].环境化学,1994,13(2):181.
[5] 杨曼君.农药残留分析中的提取技术[J].农药科学与管理,2000,21(1):13.

信 息

我国鱼类产品首推智能防伪身份证

近日,浙江省水产局、杭州市技术监督局和国家环保总局有机食品发展中心联合在国内水产业首次推出鱼类产品智能防伪卡——千岛湖“淳牌”有机鱼身份证,实现了从水体到餐桌的全程质量跟踪管理,为打造“中国有机鱼第一品牌”奠定了基础。杭州千岛湖发展有限公司和政府有关部门联手开发出国内首个鱼类产品“身份证”。全国各大定点酒店向消费者销售“淳牌”千岛湖有机鱼菜肴时,每份发送一张智能防伪卡。消费者在品尝“淳牌”有机鱼的同时,只要拨打免费查询电话,输入“淳牌”有机鱼“身份证”号码,就能辨别这条鱼的真伪,并获知这条鱼的原始“档案”。