

# 固相净化气相色谱法测定水产品中多种有机磷农药残留

万译文<sup>1,2</sup>, 刘丽<sup>1</sup>, 李小玲<sup>2</sup>, 黄华伟<sup>2</sup>

(1. 农业部渔业产品质量监督检验测试中心(长沙) 湖南 长沙 410153;

2. 湖南省水产科学研究所 湖南 长沙 410153)

**摘要:**建立了水产品中8种有机磷农药残留同时测定的方法,选择乙腈提取,ENVI-C<sub>18</sub>串联PSA固相萃取柱净化,经丙酮/正己烷混合溶液(体积比1:1)洗脱,洗脱液氮吹浓缩后采用气相色谱外标法定量。8种有机磷农药在0.050 mg/L~1.00 mg/L范围内线性良好,检出限在1.8 μg/kg~2.5 μg/kg之间,3个添加水平加标样品平行测定的相对标准偏差为1.1%~5.7%,回收率为69.8%~116%。

**关键词:**有机磷农药;固相净化;气相色谱法;水产品

中图分类号:O657.7<sup>+1</sup>

文献标识码:B

文章编号:1006-2009(2012)06-0053-04

## Determination of Organophosphorous Pesticide Residues in Aquatic Products by Gas Chromatography

WAN Yi-wen<sup>1,2</sup>, LIU Li<sup>1</sup>, LI Xiao-ling<sup>2</sup>, HUANG Hua-wei<sup>2</sup>

(1. Fishery Products Quality Supervision and Testing Center, Ministry of Agriculture, Changsha, Hunan

410153, China; 2. Hunan Fisheries Science Institute, Changsha, Hunan 410153, China)

**Abstract:** Established an analytical method for the determination of 8 organophosphorous pesticide residues in aquatic products by GC/FPD. The sample was extracted by acetonitrile, purified by ENVI-C<sub>18</sub> and PSA solid-phase extraction cartridges using acetone/*n*-hexane (1:1, V:V) as eluent. The eluent was blown to dryness under a stream of nitrogen, was then injected into the GC system to quantitative analysis. Calibration curves of high correlation were for 8 organophosphorous pesticide residues in a range between 0.050 mg/L and 1.00 mg/L, detection limits were in the range of 1.8 μg/kg~2.5 μg/kg, RSD of spiked replicate samples ranged from 1.1%~5.7% and the recovery rates were from 69.8%~116%.

**Key words:** Organophosphorous pesticides; Solid phase purify; Gas chromatography; Aquatic products

自从上世纪80年代停止使用六六六、DDT等有机氯农药后,有机磷农药作为一类新的高效、广谱杀虫剂和除草剂,在农业生产活动中被大量使用,成为防治病虫的主要农药之一,由此带来的对人类、动物和环境的危害也日益严重<sup>[1-2]</sup>。有机磷农药有剧毒,作为典型的酶毒剂,可以通过消化道摄入,也可以通过皮肤、黏膜、呼吸道吸收进入人体,对体内胆碱酯酶的活性产生抑制作用,导致神经处于过度兴奋状态而出现中毒症状。进入水体的有机磷农药在水生生物体内富集,通过食物链的富集和传递,进而对鱼类和人类造成危害。近年来,水产品中的农药残留问题已经成为社会和民众

关注的热点,食品安全事关人民群众的身体健康和生命安全。因此,建立水产品中多种有机磷农药残留的检测方法尤为重要。

在我国有机磷农药已被作为水产品残留检测的一个特定项目,但是还没有相关的残留检测方法,特别是多残留同时检测的方法。这主要是由于水产品基质中含有大量的蛋白质和脂肪,会给提取、净化和检测过程带来很大困难。目前,我国对此类农药残留情况的研究报道多数是针对粮食、蔬

收稿日期:2012-01-16; 修订日期:2012-09-04

作者简介:万译文(1984—),男,湖南张家界人,助理研究员,硕士,从事环境化学分析工作。

菜、水果等植物性食品的药残检测<sup>[3]</sup>,水产品中残留检测的研究报道相对较少。今采用固相净化气相色谱法同时测定水产品中8种有机磷农药残留,获得了满意结果。

## 1 试验

### 1.1 主要仪器与试剂

Agilent 7890A 型气相色谱仪(配火焰光度检测器 FPD),DB-1 毛细管柱(30 m × 0.32 mm × 0.25 μm),美国 Agilent 公司;Q-101 型旋转蒸发器,瑞士 Buchi(布奇)公司;CR22G 型高速冷冻离心机,日本日立公司;XW-80A 型微型漩涡混合仪,上海沪西分析仪器厂;N-EVAP 型氮吹仪,天津奥特赛恩斯仪器有限公司;KQ5200DE 型超声波清洗器,昆山超声波仪器厂;ABI35-S 型电子天平,梅特勒-托利多称重设备系统有限公司。

100 mg/L 敌敌畏、甲胺磷、氧化乐果、乐果、马拉硫磷、甲基对硫磷、杀螟硫磷、对硫磷标准溶液,国家标准物质中心;丙酮、正己烷、乙腈(色谱纯),美国 Tedia 公司;氯化钠、无水硫酸钠(分析纯,于 650 °C 下灼烧 4 h 后储存于干燥器中备用),天津市科密欧化学试剂有限公司;草鱼采自单位渔场,取其可食部分,用均质机破碎混匀,放置冰箱中于 -18 °C 冷冻暂存。

### 1.2 样品前处理

称取 5 g 样品(精确至 0.01 g)于离心管中,加入 5 g 烘干备用的氯化钠后,立刻用玻璃棒搅匀。加入 20 mL 乙腈提取液,再加入 3 mL 去离子水,漩涡混匀 1 min,超声振荡 20 min,平衡后放入离心机中以 5 000 r/min 离心 10 min,待分层。吸取上层提取液至 100 mL 梨形瓶中,重复加入 20 mL 乙腈提取一次,合并上层有机相,于 -24 °C 下冷冻 20 min,取出梨形瓶后用滤纸滤去凝固的脂肪。重复加入 10 mL 乙腈溶解残渣,再次冷冻过滤,合并提取液,经旋转蒸发器蒸至近干,加入 1 mL 乙腈溶解后待过柱净化。

预先安装好真空抽滤和固相萃取装置,将 PSA 柱安装于固相萃取装置上,上端串联 C<sub>18</sub> 柱,然后在 C<sub>18</sub> 柱上填加 1 cm 高的无水硫酸钠。使用前依次用丙酮、正己烷各 5 mL 清洗活化小柱,再加入以上样液于小柱中,流量约 2 mL/min,加入 10 mL 丙酮/正己烷混合溶液(体积比为 1:1)分两次洗脱。将洗脱液收集至玻璃离心管中,于 30 °C 氮气吹干,

用丙酮/正己烷混合溶液(体积比为 1:1)定容至 1 mL,供气相色谱分析。

### 1.3 色谱条件

进样口温度 220 °C;FPD 检测器温度 250 °C;柱温 60 °C,以 10 °C/min 升至 180 °C,保持 2 min,再以 40 °C/min 升至 280 °C,保持 5 min;载气高纯 N<sub>2</sub> 流量 10 mL/min;尾吹气流量 30 mL/min;高纯 H<sub>2</sub> 流量 65 mL/min;助燃气空气流量 80 mL/min;进样体积 1 μL;不分流进样。

## 2 结果与讨论

### 2.1 试验条件优化

#### 2.1.1 提取溶剂的选择

采用环己烷/乙酸乙酯混合溶液(体积比为 1:1)、乙腈、正己烷提取样品,回收率分别为 45%~90%、71%~89%、73%~102%,乙腈和正己烷提取液的回收率均满足要求。由于正己烷提取液在冷冻去脂的过程中对脂肪的溶解度大,效果不好,而乙腈对大多数农药的提取效果好,并且脂肪在乙腈中的溶解度小,因而该试验选择乙腈作为有机磷农药的提取剂。在试验过程中发现,由于水产品水分含量较高,直接采取乙腈提取,鱼肉会凝结,不利于将鱼肉组织中的目标物提取完全。经研究发现,加入 3 mL 水振荡,使样品充分混匀后,鱼肉组织完全分散,有利于提高提取效率。而加入氯化钠,能利用其盐析作用使样品得到充分研磨,去除一些脂类、色素及水溶性杂质,使样品得到充分的分离。当加入氯化钠离心后,离心管里分三相,上层为有机相,中层为磨碎的样品,下层为水相。

#### 2.1.2 净化柱的选择

分别考察了中性氧化铝柱、弗罗里硅土柱、硅胶柱、C<sub>18</sub> 柱的净化效果。有报道<sup>[4]</sup>称,中性氧化铝柱的净化效果好,但试验发现,乐果的回收率很低。通过进一步的淋洗曲线发现,乐果在中性氧化铝柱中的吸附性较强,改变洗脱液的极性也不能完全洗脱,回收率仍然很低。试验又验证了弗罗里硅土柱和硅胶柱的净化效果,均不能满足所有有机磷农药的回收率要求。而 C<sub>18</sub> 柱去除油脂的效果较好,PSA 柱能有效去除色素等杂质干扰,达到良好的分离净化效果<sup>[5]</sup>。因此,该试验选择 C<sub>18</sub> 柱和 PSA 柱联用作为净化分离的材料。

#### 2.1.3 冷冻去脂方式

考虑到目标化合物和脂肪在熔点存在较大

的差别,在提取过程中采用冷冻的方法可以有效去除脂类物质。该试验将乙腈提取液于 $-24\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下冷冻 $20\text{ min}$ 后,大量脂类物质析出,凝结在梨形瓶壁上。利用滤纸快速过滤,可以有效去除析出的固体脂类物质,而保留待测目标化合物,减少脂类物质对目标峰的干扰。

#### 2.1.4 温度的选择

有机磷农药性质不稳定,在高温下容易分解而影响其回收率,因而控制旋转蒸发和氮吹过程的温度尤为重要。试验表明,当水浴和氮吹温度高于 $35\text{ }^{\circ}\text{C}$ 时,氧化乐果和对硫磷的回收率较低;当温度低于 $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ 时,蒸发速度过慢,延长了前处理时间;当温度控制在 $25\text{ }^{\circ}\text{C}\sim 30\text{ }^{\circ}\text{C}$ 之间时,既有良好的加标回收效果,又缩短了旋转蒸发和氮吹的时间。不同温度条件下8种有机磷农药的回收率见图1,该试验选择 $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ 为最佳水浴和氮吹温度。

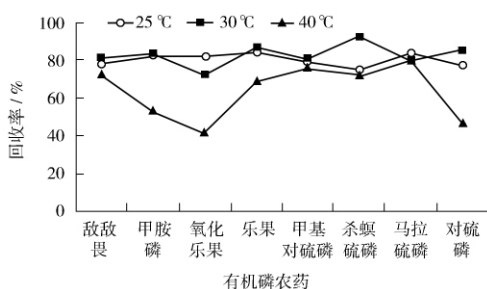


图1 不同温度条件下8种有机磷农药的回收率

Fig. 1 Recovery of different temperature for 8 organophosphorus pesticides

#### 2.1.5 洗脱方式的选择

固相萃取洗脱液一般选择甲醇、乙腈或丙酮,然而甲醇和乙腈都能与水互溶,会影响下一步的氮吹过程。因此,该试验采用丙酮/正己烷混合溶液(体积比为1:1)为洗脱液,得到了良好的洗脱效

果。考察了 $5\text{ mL}$ 洗脱液一次洗脱、 $10\text{ mL}$ 洗脱液分两次洗脱(每次 $5\text{ mL}$ )、 $15\text{ mL}$ 洗脱液分3次洗脱(每次 $5\text{ mL}$ )的效果,结果见表1。当用 $5\text{ mL}$ 洗脱液一次洗脱时,目标物洗脱不完全,有部分目标物在组合SPE柱上未被洗脱;当用 $10\text{ mL}$ 洗脱液分两次洗脱时,目标物被完全洗脱,回收率良好;当用 $15\text{ mL}$ 洗脱液分3次洗脱时,回收率与两次洗脱接近。因此,该试验采用 $10\text{ mL}$ 丙酮/正己烷混合溶液(体积比为1:1)分两次洗脱的方式。

#### 2.2 色谱条件优化

在保证各待测组分充分分离的前提下,目标物尽快出峰有利于缩短分析时间,防止有机磷农药分解而造成回收率损失。该试验通过调整柱温和载气流量,优化分析参数,确定了1.3中的色谱条件,8种有机磷农药在 $15\text{ min}$ 内得到了良好分离,缩短了分析时间。8种有机磷农药标准色谱峰见图2。

#### 2.3 标准曲线

配制 $0.050\text{ mg/L}$ 、 $0.100\text{ mg/L}$ 、 $0.200\text{ mg/L}$ 、 $0.500\text{ mg/L}$ 、 $1.00\text{ mg/L}$  8种有机磷农药混合标准溶液系列,在上述条件下测定,以峰面积为纵坐标、质量浓度为横坐标绘制标准曲线,结果见表2。

#### 2.4 方法检出限

根据欧盟对兽药残留检出限(LOD)的相关规定( $93/256/EEC$ )<sup>[6]</sup>,以3倍信噪比( $S/N=3$ )确定该方法测定水产品中8种有机磷农药的检出限为 $1.8\text{ }\mu\text{g/kg}\sim 2.5\text{ }\mu\text{g/kg}$ (见表3),低于国际通行最高限量规定和日本肯定列表一律标准( $10.0\text{ }\mu\text{g/kg}$ ),可以满足实际工作的需要。

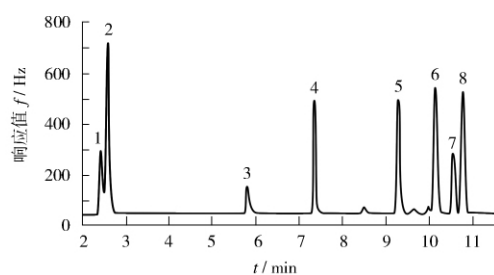
#### 2.5 精密度与加标回收试验

用该方法进行8种有机磷农药3个添加水平的加标回收试验,平行测定5次,相对标准偏差为 $1.1\%\sim 5.7\%$ ,回收率为 $69.8\%\sim 116\%$ ,结果见表3。

表1 洗脱方式对8种有机磷农药回收率的影响

Table 1 Influence of elute style on recovery for 8 organophosphorus pesticides

洗脱方式	回收率/%							
	敌敌畏	甲胺磷	氧化乐果	乐果	甲基对硫磷	杀螟硫磷	马拉硫磷	对硫磷
1次洗脱	50.8~65.3	58.3~71.4	46.1~63.2	50.8~62.5	53.8~80.2	60.4~68.4	55.1~67.6	60.4~75.3
2次洗脱	67.8~76.5	71.3~80.2	68.2~81.3	70.1~88.6	73.2~82.4	70.8~102	78.2~89.3	74.6~86.5
3次洗脱	68.5~77.8	69.9~81.2	67.4~79.5	71.2~82.7	72.6~80.9	73.8~98.6	80.7~93.6	74.9~95.8



1—敌敌畏；2—甲胺磷；3—氧化乐果；4—乐果；5—甲基对硫磷；6—马拉硫磷；7—杀螟硫磷；8—对硫磷。

图 2 8 种有机磷农药标准色谱峰

Fig. 2 Chromatography of nitrobenzenes for 8 organophosphorous pesticides

表 2 8 种有机磷农药的标准曲线

Table 2 Calibration curve for 8 organophosphorous pesticides

有机磷农药	回归方程	相关系数
敌敌畏	$y = 101x + 0.429$	0.999 1
甲胺磷	$y = 88.6x + 1.04$	0.999 4
氧化乐果	$y = 105x + 2.84$	0.998 6
乐果	$y = 82.2x + 1.35$	0.997 7
甲基对硫磷	$y = 141x + 0.462$	0.999 5
杀螟硫磷	$y = 99.5x + 1.86$	0.999 8
马拉硫磷	$y = 92.0x + 2.12$	0.999 1
对硫磷	$y = 59.2x + 1.70$	0.998 9

表 3 8 种有机磷农药的检出限及精密度与加标回收试验结果

Table 3 Test results of detection limits, precisions and spiked recoveries for 8 organophosphorous pesticides

有机磷农药	加标 10.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$		加标 50.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$		加标 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$		检出限 $w/(\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1})$
	回收率/%	RSD/%	回收率/%	RSD/%	回收率/%	RSD/%	
敌敌畏	77.3	2.9	80.3	4.2	85.4	2.3	2.2
甲胺磷	69.8	3.4	86.8	3.5	82.2	4.1	2.5
氧化乐果	80.8	2.3	103	5.7	116	3.0	2.4
乐果	70.6	3.6	76.1	2.8	76.7	4.2	2.1
甲基对硫磷	89.4	2.9	88.8	2.4	90.8	1.8	1.9
杀螟硫磷	79.9	1.1	89.6	2.8	81.5	2.2	2.4
马拉硫磷	80.6	2.5	93.5	3.6	88.8	3.0	1.8
对硫磷	85.0	1.6	93.7	2.3	92.4	2.7	2.0

### 3 结语

采用固相净化气相色谱法同时测定 8 种有机磷农药残留,适用于不同基质的水产品及其制品,样品前处理操作简便,试剂用量少,回收率稳定,精密度良好。该方法结合了 FPD 检测器高选择性的优点,可以为有机磷农药在水产品中的消除规律研究及毒理评价提供灵敏、准确的分析手段。

#### [参考文献]

- [1] 邓延慧. 气相色谱-脉冲火焰光度检测器测定痕量有机磷农药[J]. 环境监测管理与技术, 2003, 15(3): 24-26.
- [2] 杨丽莉,姚朝英,纪英. 快速固相萃取法测定食品中多种有机磷农药残留[J]. 环境监测管理与技术, 2006, 18(1): 23-24.
- [3] 吴福中,王锦海,刘志红,等. 气相色谱法测定蔬菜中 7 种残留有机磷农药[J]. 中国农学通报, 2009, 25(19): 59-61.
- [4] 陈树兵,俞雪钧,樊苑牧,等. 冷冻去脂-固相萃取-气相色谱法快速测定水产品中硫丹、硫丹硫酸酯和溴氰菊酯残留量[J]. 分析实验室, 2008, 27(4): 80-83.
- [5] 吴刚,鲍晓霞,王华雄,等. 加速溶剂萃取-凝胶渗透色谱净化-气相色谱快速分析动物源性食品中残留的多种有机磷农药[J]. 色谱, 2008, 26(5): 581-584.
- [6] EEC. Council regulation No 93/256/EEC [S]. European: The Council of the European Communities, 1993.

### · 简讯 ·

## 科学家观测首次发现大气热层 CO<sub>2</sub> 含量上升

新一期英国《自然-地学》杂志刊登报告说,在大气层分层中处于上部的热层,其 CO<sub>2</sub> 含量近来出现上升趋势。这是科学家首次直接观测到这个层次大气中 CO<sub>2</sub> 含量上升,说明人类大量排放 CO<sub>2</sub> 的影响已经触及大气外围。

热层又称暖层,在大气分层中位于中间层之上,高度约从 80 km 到 500 km,在热层之外就是气体分子可以散失到太空的逃逸层。近年来科学界在测量不同高度大气中 CO<sub>2</sub> 含量的变化,但之前最高只测量到 35 km 的高度。

摘自 www.jshb.gov.cn 2012-11-16