

蔬菜中克螨特残留量的气相色谱法测定

郭建辉¹, 张维德¹, 陈丽萍¹, 陈仪男²

(1 福建省漳州市农业检验监测中心, 福建 漳州 363000;

2 福建省漳州职业技术学院食品与生物工程系, 福建 漳州 363000)

摘要: 建立了蔬菜中克螨特残留量气相色谱测定方法, 以石油醚/丙酮 (1: 1) 或正己烷/丙酮 (1: 1) 混合溶剂为提取剂, 振荡萃取, 通过液-液分配除去提取剂中的水溶性杂质和水分, 并以弗罗里硅土层析柱去除提取液中的有机杂质, 正己烷/乙酸乙酯 (95: 5) 或正己烷/丙酮 (95: 5) 洗脱剂洗脱克螨特, 用 GC-FPD (配 S 滤光片) 测定克螨特残留量, 色谱柱采用“农残”毛细管柱。结果表明, 蔬菜样品中的克螨特平均添加回收率为 88.5%~108.1%, 相对标准偏差 (RSD) 为 3.14%~9.54%, 最小检测量为 0.1 ng, 检出限为 0.01 mg·kg⁻¹。该方法简便、准确、能满足实际样品分析。

关键词: 蔬菜; 克螨特; 残留; 测定; 气相色谱法

中图分类号: O 657.71

文献标识码: A

Determination of propargite residue in vegetables by gas chromatography

GUO Jian-hui¹, ZHANG Wei-de¹, CHEN Li-ping¹, CHEN Yi-nan²

(1. Zhangzhou Agricultural Test and Inspection Centre, Zhangzhou, Fujian 363000, China;

2. Food and Biotechnology Department of Zhangzhou Vocational Technical College,
Zhangzhou, Fujian 363000, China)

Abstract: A method for determining propargite residue in vegetables was established by gas chromatography. The vegetable samples were treated with petroleum ether/acetone (1: 1) or n-hexane/acetone (1: 1), then extracted by agitation, the water-soluble impurities in the extract were removed by liquid-liquid partitioning method, the organic impurities were removed with Florisil chromatography, then the detergent of n-hexane/ethyl acetate (95: 5) or n-hexane/acetone (95: 5) was used to elute propargite. Propargite was determined by GC-FPD (with S optical lamella), separated by “Pesticide Residues II” capillary column. The results showed that the average recovery of propargite ranged from 88.5%~108.1%, and RSD ranged from 3.14%~9.54%, MDQ was 0.1 ng, LOD was 0.01 mg·kg⁻¹ in vegetable samples. This method is simple, accurate, and it can satisfy the analysis of reality samples.

Key words: vegetables; propargite; residue; determination; Gas chromatography

克螨特 (propargite), 又名丙炔螨特, 化学名称为 2-(4-特丁基苯氧基) 环己基丙-2-炔基亚硫酸酯, 是低毒广谱性有机硫杀螨剂, 可有效用于防治苹果、棉花、大豆、番茄和蔬菜上的全爪螨属和叶螨属以及广泛的食植性螨类^[1]。近几年来, 漳州地区广泛使用克螨特防治毛豆、豌豆、西红柿、甘蓝、青葱等蔬菜上成螨、若螨害虫。目前, 虽然克螨特在棉籽、苹果、柑桔, 以及鱼类等农产品上的残留量检测技术方法有所报道^[2~3], 但迄今国内就克螨特在毛豆、豌豆、西红柿、甘蓝、青葱等蔬菜上的残留量检测技术方法尚未见报道, 国外有关这方面的研究也较少。鉴于漳州地区是毛豆、豌豆、甘蓝、青葱等蔬菜主要

的生产基地及其产品的出口基地, 探讨克螨特在蔬菜上的残留量检测技术方法, 将有助于做好蔬菜中克螨特残留含量的监测工作, 促进蔬菜农产品质量安全生产的发展。

1 材料与方法

1.1 材料

毛豆、西红柿、甘蓝、油菜、苦瓜、青葱。

1.2 主要仪器与试剂

1.2.1 主要仪器 岛津 GC2010 气相色谱仪 (配 FPD 检测器); 岛津 GCsolution 色谱工作站; 旋转蒸发仪; 恒温水浴器。

收稿日期: 2005-11-07 初稿; 2006-07-17 修改稿

作者简介: 郭建辉 (1961-), 男, 教授级高级农艺师, 从事农产品质量安全、农药残留等方面的研究。

基金项目: 漳州市科技计划项目 (Z03028)

1.2.2 试剂 正己烷 (AR)、丙酮 (AR)、无水硫酸钠 (AR, 650℃灼烧 4 h, 在干燥器内冷却至室温)、乙酸乙酯 (AR)、弗罗里硅土 (650℃灼烧 4 h, 使用前 130℃活化 4 h, 在干燥器内冷却至室温, 加 2% 蒸馏水脱活备用), 克螨特标准品 (由中国标准物质中心提供, 含量 95.4%)。

1.3 提取与净化方法

1.3.1 提取与净化流程 提取流程: 准确称取匀浆蔬菜样品 20.0 g 置于 250 mL 具塞三角瓶中, 加 80 mL 提取剂 (A) 在振荡器上振荡 30 min, 过滤, 残渣用 20 mL 乙酸乙酯再提取 0~2 次 (B), 合并滤液, 转入 250 mL 分液漏斗中, 加入 100 mL 硫酸钠溶液 (20 g·L⁻¹), 剧烈振摇 1 min, 静置分层, 将下层水层转入另一 250 mL 分液漏斗中, 用 2×30 mL 正己烷萃取两次, 合并上层有机层, 过无水硫酸钠层干燥, 在旋转蒸发仪上蒸发浓缩, 定容至 5.0 mL 待测或待净化。

净化流程: 层析柱中自下而上分别装入 2 cm 无水硫酸钠、4 g 弗罗里硅土、2 cm 无水硫酸钠, 用 20 mL 正己烷预淋, 弃淋洗剂, 将上述浓缩液全部转入层析柱中, 待液面降至无水硫酸钠层时加入 100 mL 洗脱剂 (C), 于自然状态的流速条件下洗脱, 收集洗脱剂, 浓缩、定容至 2.0 mL 待测。

1.3.2 提取和净化条件优选试验 在毛豆样品中添加 2.0 μg·mL⁻¹ 克螨特标准工作溶液, 按 1.3.1 方法进行提取和净化, 其中提取剂 (A) 设 3 水平, 残渣再提取次数 (B) 设 3 水平; 提取净化洗脱剂选用 (C) 设 3 水平, 各因素供试水平的优选按 $L_9(3^4)$ 正交表进行试验 (表 1)。

表 1 提取和净化条件优选正交试验 $L_9(3^4)$ 因素与水平

Table 1 The factors and levels of excellent orthogonal test $L_9(3^4)$ of extraction and purification condition

水平号	提取剂 (A)	残渣再提取次数 (B) (次)	净化洗脱剂选用 (C)
1	乙酸乙酯	0	不净化
2	石油醚/丙酮 (1:1)	1	正己烷/乙酸乙酯 (95:5)
3	正己烷/丙酮 (1:1)	2	正己烷/丙酮 (95:5)

1.4 仪器测定

1.4.1 标准样品的配制 用正己烷把克螨特标准样品配制成浓度为 100.0 μg·mL⁻¹ 标准储备液, 然后根据需要再用正己烷稀释成标准工作溶液。

1.4.2 色谱条件 色谱柱为“农残”毛细管柱 [30 m × 0.32 mm (内径) × 1.0 μm (膜厚), 中国科学院兰州物理化学研究所生产]; 载气为 N₂,

纯度 > 99.999%, 流量 4.61 mL·min⁻¹; 氢气流量为 85 mL·min⁻¹; 空气流量为 115 mL·min⁻¹; 进样口温度为 260℃; 检测器温度为 300℃; 柱升温程序为: 160℃ $\xrightarrow{20^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}}$ 240℃ $\xrightarrow{5^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}}$ 260℃ (5 min); 采用不分流进样, 进样量 2.0 μL。

1.5 定性与定量

按仪器条件, 对标准工作溶液和样品溶液等体积穿插进样, 外标法定性定量 (用峰面积定量), 计算公式如下: $C = (A \times C_0 \times V) / (A_0 \times m)$, 式中: C 为蔬菜中克螨特残留量, mg·kg⁻¹; A 为试样峰面积, μV·s⁻¹; C₀ 为标样浓度, μg·mL⁻¹; V 为定容体积, mL; A₀ 为标样峰面积, μV·s⁻¹; m 为试样质量, g。

1.6 添加回收率试验

首先在毛豆样品中添加 0.5 μg·mL⁻¹、2.0 μg·mL⁻¹、5.0 μg·mL⁻¹ 克螨特标准工作溶液, 同时又在西红柿、甘蓝、油菜、苦瓜、青葱等样品中添加 1.0 μg·mL⁻¹ 克螨特标准工作溶液, 按上述方法进行添加回收率试验, 其中于提取流程中提取剂选用石油醚/丙酮 (1:1), 残渣用 20 mL 乙酸乙酯再提取 1 次, 于净化流程中洗脱剂选用正己烷/丙酮 (95:5), 各添加浓度作 3 个平行样。

1.7 样品分析

从本地蔬菜市场随机抽取若干蔬菜, 采用优选方法进行克螨特残留量检验。

2 结果与分析

2.1 标准曲线的建立

按 1.4.2 方法中的色谱条件对浓度为 1.0 μg·mL⁻¹ 克螨特标准工作溶液上机测定, 建立标准曲线 (图 1)。由图 1 可知, 克螨特保留时间 (R_t) 为 7.782 min。

在本方法所确定的试验条件下, 把克螨特标准储备液稀释成 0.05 μg·mL⁻¹、0.2 μg·mL⁻¹、0.5 μg·mL⁻¹、1.0 μg·mL⁻¹、2.0 μg·mL⁻¹、5.0 μg·mL⁻¹ 质量浓度, 进行面积测定。结果经回归分析表明, 在供试的 0.05~5.0 μg·mL⁻¹ 质量浓度范围内, 克螨特与相应的峰面积值呈良好的线性关系, 线性方程为 $Y = 9.624X$, 相关系数 (r) 为 0.999, 经测验, 其相关性达极显著性水平 ($r_{0.01} = 0.911$)。表明本方法对克螨特标准工作溶液的最低检出浓度为 0.05 μg·mL⁻¹ (此时响应值为噪声的 2~3 倍), 即最低检测量为 0.1 ng, 检出限为 0.01 mg·kg⁻¹。

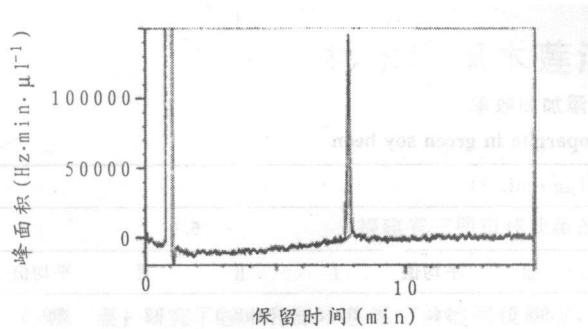


图 1 克螨特标样色谱图

Fig 1 Chromatogram of propargite standard sample

2.2 样品前处理方法的优选

在毛豆样品中添加 $20 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 克螨特标准

工作溶液, 按“1.3.1”流程进行提取和净化, 对供试提取剂 (A) 的不同水平, 残渣再提取次数 (B) 的不同水平, 及在净化流程中提取液净化与否或洗脱剂选用 (C) 的不同水平, 按 $L_9(3^4)$ 正交表构成的不同处理组合, 克螨特的回收率有所差异 (表 2)。经对表 2 中 “ $|2.0-x|$ ” 的数据进行方差分析后表明, A 因素和 B 因素的不同水平间差异达显著水平, 而 C 因素的不同水平间差异不显著 (表 3), 表明不同的提取剂及残渣再提取次数对毛豆中残留的克螨特的萃取效果有明显的影响; 采用正己烷/乙酸乙酯 (95: 5) 和正己烷/丙酮 (95: 5) 均可完全洗脱吸附于弗罗里硅土净化柱上的克螨特。

表 2 提取和净化条件正交试验 $L_9(3^4)$ 结果Table 2 The results of orthogonal test $L_9(3^4)$ of extraction and purification condition

处理组合	$A_1 B_1 C_1$	$A_1 B_2 C_2$	$A_1 B_3 C_3$	$A_2 B_1 C_2$	$A_2 B_2 C_3$	$A_2 B_3 C_1$	$A_3 B_1 C_3$	$A_3 B_2 C_1$	$A_3 B_3 C_2$
实测值 (x) ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	1.05	1.39	1.38	2.58	2.30	2.08	2.78	1.84	1.97
$ 2.0-x $ ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	0.95	0.61	0.62	0.58	0.30	0.08	0.78	0.16	0.03
回收率 (%)	52.7	69.4	68.8	128.9	115.1	103.9	139.2	91.9	98.4

表 3 方差分析

Table 3 The table of variance analysis

因素	DF	SS	MS	F	$F_{0.05}$	$F_{0.01}$
A	2	0.328	0.164	54.67*	19.00	99.00
B	2	0.461	0.231	77.00*		
C	2	0.055	0.028	9.33		
误差	2	0.006	0.003			
总变异	8	0.850				

注: * 表示差异达 5% 显著性水平, ** 表示差异达 1% 极显著性水平(下同)。

对 A 因素和 B 因素的不同水平间差异性的多重比较分析后可以看出, 提取剂 (A) 采用石油醚/丙酮 (1: 1) (A_2) 或正己烷/丙酮 (1: 1) (A_3), 对毛豆样品克螨特的提取效果明显优于采用乙酸乙酯 (A_1) 的效果 (表 4); 残渣用 20 mL 乙酸乙酯再提取后, 可明显提高毛豆样品克螨特的提取效率, 再提取次数 1 次 (B_2) 和 2 次 (B_3) 对毛豆样品克螨特的提取效率间的差异不显著 (表 5)。

综上所述, 蔬菜中克螨特的提取, 采用石油醚/丙酮 (1: 1) 或正己烷/丙酮 (1: 1) 振荡萃取, 残渣再用乙酸乙酯再萃取 1 次有较优的提取效果; 对提取液的净化采用正己烷/乙酸乙酯 (95: 5), 或正己烷/丙酮 (95: 5) 洗脱均可完全洗脱吸附于

弗罗里硅土净化柱上的克螨特。

表 4 A 因素各水平比较

Table 4 The levels contrast of factor A

水平	平均值 ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	差数 ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)
A_1	0.73	0.41*
A_2	0.32	0
A_3	0.32	0.41*

表 5 B 因素各水平比较

Table 5 The levels contrast of factor B

水平	平均值 ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	差数 ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)
B_1	0.77	0.41*
B_2	0.36	0.12
B_3	0.24	0.53*

2.3 添加回收率试验

为检验方法的准确性、精密性和灵敏性, 特做添加回收率试验, 结果列于表 6、表 7。由表 6 和表 7 可知, 毛豆样品添加的 3 个水平克螨特标准工作溶液, 回收率为 88.5% ~ 108.1%, 相对标准偏差 (RSD) 均小于 10%; 西红柿、甘蓝、油菜、苦瓜与青葱样品添加的 $1.0 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 克螨特标准工作溶液, 平均回收率为 96.6% ~ 102.2%, 相对标准偏差 (RSD) 为 3.14% ~ 9.43%。由此可见,

该检验方法有良好的准确性、精密性和灵敏性。

表 6 毛豆中克螨特添加回收率
Table 6 Fortified recoveries of propargite in green soy bean

回收率(%)	添加浓度($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)									
	0.5					2.0				
	平均值		平均值		平均值		平均值		平均值	
106.0	106.7	96.1	102.9	105.1	88.5	90.6	94.7	97.8	108.1	92.4
RSD(%)	5.93				9.02				7.98	

表 7 西红柿、甘蓝、油菜、苦瓜与青葱中克螨特添加回收率

Table 7 Fortified recoveries of propargite in tomato, cabbage, cole, balsam pear, scallion (n=3)

	西红柿	苦瓜	油菜	甘蓝	青葱
平均回收率(%)	98.6	97.7	89.5	102.2	95.6
RSD(%)	7.87	3.67	6.74	3.14	9.43

2.4 样品检测

采用本试验所筛选的优选方法, 对芗城区北桥蔬菜市场随机抽取苦瓜、豇豆、蕹菜、黄瓜、苋菜、花菜等蔬菜样品 30 份进行测定, 结果测出其中 16 份高于方法的测定限, 占所检测样品数的 53.3%。

3 小结与讨论

3.1 蔬菜中农药残留量的测定准确性与否, 关键的技术环节之一在于样品前处理提取剂的选择、提取是否彻底, 以及净化中洗脱剂的选择。试验表明, 本方法的不同提取剂对毛豆中的克螨特提取效果有很大的影响, 其原因可能: 克螨特为亚硫酸酯类有机物, 属极性较强的农药, 丙酮的极性明显强于乙酸乙酯, 较接近于克螨特, 根据相似相溶原理, 克螨特在丙酮中的溶解性优于乙酸乙酯, 因此, 提取剂采用石油醚/丙酮 (1:1) 或正己烷/丙酮 (1:1) 对毛豆中的克螨特提取效果明显呈现出优于乙酸乙酯; 另外, 毛豆中的克螨特首次提取未能彻底萃取出, 需要再提取。

3.2 在采用丙酮、乙酸乙酯提取蔬菜中克螨特时, 样品中的水分、水溶性杂质、有机物等也被提取出来, 这些杂质在下一步仪器测定中常产生干扰, 影响定性定量结果, 必须采取净化措施。本方法就采用液-液分配法除去提取液中的水分和水溶性杂质。分配试剂选用正己烷, 因为正己烷对克螨特溶解性较好, 与水不溶。液-液分配中加入硫酸钠溶液 ($20 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$) 是利用盐析作用提高克螨特在有

机相中的分配份数, 该溶液还有利于有机相与水相分层, 有利于破除液-液分配中产生的乳化现象。

3.3 我国对叶菜类蔬菜中克螨特的最高残留限量 (MRL) 为 $5.0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ^[4], 为此, 在本研究中按照我国最高残留限量标准作了限量标准级和比限量标准低一个数量级的添加回收率试验, 并在该限量标准范围进行仪器测定的方法线性关系分析, 用以检查本方法与我国最高残留限量标准的匹配性, 结果表明, 在 $0.05 \sim 5.0 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 质量浓度范围内, 克螨特与相应的峰面积值呈良好的线性关系, 最小检出浓度可达 $0.0125 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 该检出限能满足于我国 MRL 标准的要求, 也能满足于国际上蔬菜中克螨特 MRL 标准的要求, 如 CAC 制定的 MRL 标准, 黄瓜为 $0.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 、番茄为 $0.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 、菜豆与豆荚为 $20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ^[5]。

3.4 方法的准确性用添加回收率检查, 精密度用 3 个平行样间的变异系数及相对标准偏差检查, 灵敏度用检出限检查。用本方法 3 项技术参数进行多个试验, 包括对多种具有代表性的蔬菜类别进行试验, 结果显示, 各试验均具有很好的重复性, 符合我国有关农药残留测定技术参数的标准。

参考文献:

- [1] 张敏恒. 农药商品手册 [M]. 沈阳: 沈阳出版社, 1999: 444–447.
- [2] 农业部农药检定所. 农药残留量实用检测方法手册 (1) [M]. 北京: 中国农业科技出版社, 1995: 264–270.
- [3] 吴晓萍, 王玲, 施点望, 等. 固相萃取-高效液相色谱法测定鱼组织中的吡喹酮和克螨特残留 [J]. 色谱, 2005, 23 (4): 343.
- [4] 叶纪明, 何艺红, 陶传江. 中国农药残留量国家标准情况简介 [J]. 农药科学与管理, 2000, 21 (4): 20–23.
- [5] 《主要贸易国家和地区食品中农兽药残留量标准》编委会. 主要贸易国家和地区食品中农兽药残留量标准: 农兽卷 [M]. 北京: 中国标准出版社, 2004.

(责任编辑: 林树文)