

生菜中高效氯氰菊酯农残分析方法的优化

史少然, 赵建庄, 范双喜, 吴昆明, 贾临芳, 梁丹*

(北京农学院, 农产品有害微生物及农残安全检测与控制北京市重点实验室, 北京 102206)

摘要: **目的** 建立生菜中高效氯氰菊酯农残分析方法。**方法** 采用乙腈提取生菜中的高效氯氰菊酯, 用 Agilent 弗罗里硅柱、NH₂ 柱和 C₁₈ 柱固相萃取柱分别对样品进行净化, 利用毛细管柱气相色谱法作为检测手段, GC-ECD 进行定性分析。**结果** 高效氯氰菊酯经过弗罗里硅柱的回收率在 91.21%~102.78%, 变异系数是 0.63%~3.57%, 最低检出限为 0.001 mg·kg⁻¹。**结论** 高效氯氰菊酯顺式体氯氰菊酯和反式体氯氰菊酯 2:3 的双峰分离较好, 操作简单, 灵敏度高, 添加回收率理想, 可用于生菜中高效氯氰菊酯的残留检测分析。

关键词: 高效氯氰菊酯; 生菜; 气相色谱法; 优化

Determination of cypermethrin pesticide in lettuce

SHI Shao-Ran, ZHAO Jian-Zhuang, FAN Shuang-Xi, WU Kun-Ming, JIA Lin-Fang, LIANG Dan*

(Agricultural Produce Harmful Microbes and Pesticide Safety Testing and Control of Beijing Key Laboratory, Beijing University of Agriculture, Beijing 102206, China)

ABSTRACT: Objective To establish a method for determination of cypermethrin pesticide in lettuce. **Methods** Samples were extracted with acetonitrile, purified by Agilent SPE, Florisil column, NH₂ column and C₁₈ column, respectively, and detected by capillary column gas chromatography with ECD as detector. **Results** Recoveries of cypermethrin were 91.21%~102.78% with coefficient of variation of 0.63%~3.57%. The lowest detection limit was 0.001 mg·kg⁻¹. **Conclusion** The method is simple, sensitive, accurate and reproducible, and the separation of cypermethrin cis-cypermethrin and trans-cypermethrin 2:3 bimodal peak is very satisfactory. This method can be used to detect residues of cypermethrin in lettuce.

KEY WORDS: cypermethrin; lettuce; gas chromatography; optimization

1 引言

高效氯氰菊酯化学名称是 2,2-二甲基-3-(2,2-二氯乙烯基)环丙烷羧酸- α -氰基-(3-苯氧基)-苄酯, 是氯氰

菊酯两个高效异构体(顺式体氯氰菊酯和反式体氯氰菊酯, 比例约为 2:3)的混合物。高效氯氰菊酯是新型拟除虫菊酯类杀虫剂, 具有极强的胃毒和触杀作用, 活性高、广谱、速效、持效期较长, 对蔬菜、棉花、

基金项目: 北京高校“青年英才计划”项目(FK2012-16)、北京市教委科技面上项目“气质联机技术在农药残留降解菌筛选中的开发应用”、人才强教深化计划——中青年骨干人才培养计划(PHR201108278)、北京市教委面上科技项目-KM201210020014

Fund: Supported by Beijing University “Young Talents Program” (FK2012-16), Development and Application of Pesticide Residues Degrading Bacteria by the Technology of GC-MS, Funding Project for Academic Human Resources Development in Institutions of Higher Learning Under the Jurisdiction of Beijing Municipality (PHR201108278), and General Program of Science and Technology Development Project of Beijing Municipal Education Commission (KM201210020014)

*通讯作者: 梁丹, 实验师, 主要研究方向为农药残留分析。E-mail: liangdansy@sina.com

*Corresponding author: LIANG Dan, Technician, Beijing University of Agriculture, No.7, Huilongguan, Changping District, Beijing 102206, China. E-mail: liangdansy@sina.com

果树等作物上的鳞翅目、鞘翅目等多种害虫有良好的防治效果^[1-3]。高效氯氟菊酯是非常理想的杀虫剂之一,其产量早在2006年就占我国农用拟除虫菊酯的50%以上^[4]。高效氯氟菊酯的毒性:原药大鼠急性经口LD为251 mg·kg⁻¹,大鼠急性经皮LD₅₀为1600 mg·kg⁻¹,兔急性经皮LD为2400 mg·kg⁻¹,大鼠急性吸入LC₅₀>1.97 mg·h⁻¹,对鸟类低毒,对蜜蜂、蚕和蚯蚓剧毒^[3]。因此,研究高效氯氟菊酯农药残留对食品安全意义重大。丁蕊艳^[8]采用气相色谱法测定棉籽中高效氯氟菊酯残留;单娟和方学智等对玉米中氯氟菊酯残留的检测方法进行了研究^[9-10];殷春杭等^[11]对蔬菜中高效氯氟菊酯残留进行了研究;刘腾飞^[12]对生菜中的高效氯氟菊酯进行了检测方法的建立等,但是此方法没有很好地把高效氯氟菊酯的双峰(2:3)进行分离。

本文根据农药残留量实用检测方法手册,采用气相色谱法测定生菜中高效氯氟菊酯残留量,设定的气相色谱条件能够很好地分离高效氯氟菊酯的双峰,具有检测限低、灵敏度高、回收率好的特点。

2 材料与方法

2.1 供试农药与试剂

农药:100 mg·L⁻¹高效氯氟菊酯标准品,由农业部天津环保所提供。

试剂:无水硫酸钠:于350℃灼烧4 h后备用;氯化钠、无水硫酸钠、乙腈等均为分析纯,购自北京化学试剂公司;正己烷、丙酮为色谱纯(Tedia有限公司, Fairfield, OH, USA); Florisil 固相萃取柱、NH₂固相萃取柱、C₁₈固相萃取柱,规格均为1000 mg·mL⁻¹(美国Agilent公司)。

2.2 试验仪器与设备

Agilent 6890N(μ -ECD)(美国Agilent); Kubota6200型离心机(日本Kubota公司); SC-8L-150型数控固相萃取仪(广州智真生物科技有限公司); KQ-600型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司); Laborota4001型旋转蒸发器(德国Heidolph公司); FW-100型高速组织粉碎机(天津市泰斯特仪器有限公司); 移液枪(德国Eppendorf公司); XW-80A型涡旋振荡器(上海青浦沪西仪器厂); SHB-III型循环水式多用真空泵(郑州长城仪器厂); SANYO超低温冰箱(-40℃); 其他玻璃仪器。

2.3 供试作物

生菜,为设施温室栽培;供试地点:北京农学院

科技园东区研发基地。

2.4 分析方法

2.4.1 样品的提取和净化

生菜样品:称取10.0 g已匀浆的均质生菜试样于250 mL锥形瓶中,加入30 mL乙腈,超声提取30 min,抽滤至100 mL具塞量筒(量筒内预先加入10.0 g氯化钠)中,涡旋振荡1 min后静置1 h,待乙腈相和水相完全分离。吸取10 mL乙腈相于15 mL离心管(离心管内预先加入3.0 g无水硫酸钠)中,6000 r/min离心5 min后吸取5 mL乙腈相于25 mL的圆底烧瓶中,旋转蒸发至1 mL左右,待过柱净化。每个浓度样品平行3次。

取Florisil固相萃取柱,用3 mL正己烷和5 mL正己烷:丙酮(90:10, v/v)预淋洗柱子,待液面降至硅胶顶部时,将上述待净化溶液转移至柱中,弃去预淋洗液,用5 mL正己烷:丙酮(90:10, v/v)洗脱净化柱两次,收集洗脱液于25 mL的圆底烧瓶中,39℃旋转蒸发近干,正己烷定容至1 mL,进行氮吹,再用正己烷定容1 mL,待测。

NH₂固相萃取柱、C₁₈固相萃取柱分别用上述相同的方法净化样品。

2.4.2 色谱条件

色谱柱:HP-5毛细管柱(30 m×0.32 mm i.d. 0.25 μ m);进样口温度260℃,程序升温:初始温度160℃,以20℃/min速率升温至260℃,保持8 min;检测器温度300℃,压力93.3 kPa,载气为N₂,流速为1 mL·min⁻¹,尾吹N₂为40 mL/min;进样量为1 μ L,不分流进样。

3 结果与讨论

3.1 条件选择

3.1.1 色谱条件优化

根据高效氯氟菊酯的物理性质,为了能顺利将高效氯氟菊酯双峰(2:3)分离,采用柱程序升温:初始温度160℃,以20℃/min速率升温至260℃,保持8 min;检测器温度300℃,进样口温度260℃。

3.1.2 提取方法的选择

高效氯氟菊酯原药为黏稠黄色或棕色固体,64~71℃,纯品密度1.32 g/cm³;在水中溶解度为0.01 mg/L,易溶于丙酮、环己烷、二甲苯、氯仿和乙腈等,在中性、酸性介质中较稳定,在强碱条件下易水解,常温贮存稳定性2年以上^[3]。采用加入乙腈提取的方

法, 在净化过程中, 采用正己烷 5 mL、正己烷/丙酮(90:10, v/v) 5 mL 作为淋洗液, 分别进行 2 次淋洗。见下表 1。结果表明, 用正己烷/丙酮(90:10, v/v)淋洗时高效氯氟菊酯的回收率高于 90%, 而用正己烷/丙酮(100:0; 80:20; 70:30)时效果均低于 90%, 因此采用正己烷/丙酮(90:10, v/v)作为淋洗液进行实验。

表 1 淋洗液的选择
Table 1 The selection of eluent

正己烷: 丙酮	100:0	90:10	80:20	70:30
回收率(%)	88	98	75	65

3.1.3 固相萃取柱的选择

查阅文献^[6-15], 本文对 3 种固相萃取柱的柱回收率分别进行了测定, 三种固相萃取柱对同种浓度的高效氯氟菊酯农药添加回收率见表 2, 从下列表 2 可以看出, Florisil 固相萃取柱对高效氯氟菊酯农药回收率较好, 而 NH₂ 固相萃取柱和 C₁₈ 固相萃取柱的回收率均低于 Florisil 固相萃取柱, 最后确定选择 Florisil 固相萃取柱进行试验。

表 2 高效氯氟菊酯农药在 Florisil, NH₂, C₁₈ 固相萃取柱中的回收实验结果

Table 2 The recoveries of cypermethrin by florisil, NH₂, C₁₈ solid-phase extraction column

固相萃取柱	Florisil 柱	NH ₂ 柱	C ₁₈ 柱
平均回收率 %	93.10	83.94	88.00

3.2 方法评价

配制高效氯氟菊酯标准系列溶液(0.1、0.2、0.5、1.0、2.0、5.0、10.0 mg·L⁻¹), 在上述色谱条件下进行测定, 高效氯氟菊酯的保留时间为 13.714 min。以标准溶液浓度为横坐标, 峰面积为纵坐标绘制高效氯氟菊酯标准工作曲线。线性方程为 $Y=19162X+5684.4$, 相关系数 $R^2=0.9942$ ($n=7$)。结果表明, 在 0.1~10.0 mg·L⁻¹ 范围内, 高效氯氟菊酯含量与峰面积有良好的线性关系。此方法最低检出限为 0.001 mg·kg⁻¹ ($S/N=3$)。

取空白生菜, 进行添加回收率试验, 添加浓度为 0.01、1.00、2.00 mg·kg⁻¹, 每个浓度 3 个平行。结果见表 3, 高效氯氟菊酯在生菜上的添加回收率为

91.21%~102.78% 之间, 变异系数在 0.63%~3.53% 之间, 符合农药残留试验准则要求, 可用于高效氯氟菊酯在生菜上的残留分析测定。

表 3 高效氯氟菊酯在生菜上的添加回收实验
Table 3 Recoveries of cypermethrin in lettuce

添加浓度(mg/kg)	检测浓度(mg/kg)	回收率%	RSD%
0.01	0.00912	91.21	2.15
	0.00970	97.00	
	0.00931	93.10	
1.00	0.9960	99.60	3.57
	0.9316	93.16	
	1.0278	102.78	
2.00	1.9959	99.79	0.63
	1.9644	98.22	
	1.9899	99.49	

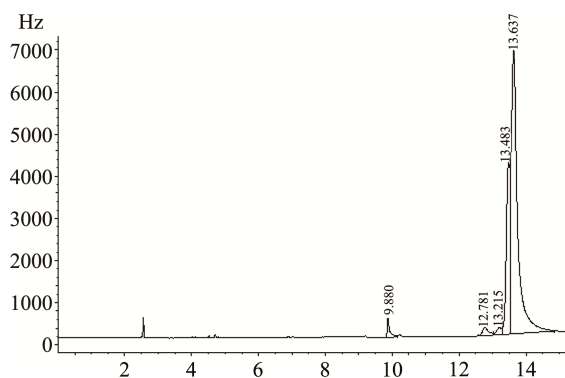


图 1 Florisil 固相萃取柱净化后所检测的样品图谱

Fig.1 Sample chromatogram after florisil solid-phase extraction (SPE)

由表 3 和图 1 可以看出, Florisil 固相萃取柱对生菜上的高效氯氟菊酯添加回收率效果较好。从图 1 可以看出, 选择 Florisil 固相萃取柱对高效氯氟菊酯顺式体氯氟菊酯和反式体氯氟菊酯 2:3 的双峰分离得理想, 并且 Florisil 固相萃取柱净化后的样品杂峰较少, 过滤净化比较充分。

4 结论

本试验采用乙腈提取生菜中的高效氯氟菊酯, 用 Agilent 弗罗里硅柱对生菜中的高效氯氟菊酯残留进行净化, 利用毛细管柱气相色谱法作为检测手段, GC-ECD 进行定性分析。在优化条件下, 能很好地将

高效氯氰菊酯顺式体氯氰菊酯和反式体氯氰菊酯 2:3 的双峰分离。平均回收率为 91.21%~102.78%，相对标准偏差($n=3$)为 0.63%~3.57%，符合我国农药残留检测要求。

参考文献

- [1] 全国农药残留试验研究协作组. 农药残留量实用检测方法手册(第二卷) [M]. 北京: 化学工业出版社, 2001: 433-435.
National Cooperative Research Group on Pesticide Residues trials. Pesticide residues and practical detection method Manual (Volume II) [M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2001: 433-435.
- [2] 农业部农药检定所. 农药残留量实用检测方法手册(第一卷) [M]. 北京: 中国农业科技出版社, 1995: 13-39.
Ministry of Agriculture. Pesticide residue detection method practical manual (Volume I) [M]. Beijing: China Agricultural Science and Technology Press, 1995: 13-39.
- [3] 王志波. 4.5%高效氯氰菊酯乳油的气相色谱分析研究[J]. 福建分析测试, 2007, 16(2): 65-67.
Wang ZB. Analysis of 4.5% Beta-cypermethrin EC by Gas Chromatography [J]. Fujian Anal Test, 2007, 16 (2): 65-67.
- [4] 朱将伟, 邵小龙. 气相色谱法测定粮食中有机磷农药残留[J]. 粮食与饲料工业, 2010, (4): 61.
Zhu JW, Shao XL. Determination of organophosphorus pesticide residues in foodstuff by gas chromatography [J]. Cereal Feed Ind, 2010, (4): 61.
- [5] NY/T761-2004 蔬菜和水果中有机磷, 有机氯, 拟除虫菊酯和氨基甲酸酯类农药多残留检测方法[S].
NY/T761-2004 Pesticide multiresidue screen methods for determination of organophosphorus pesticides, organochlorine pesticides, pyrethroid pesticides and carbamate pesticides in vegetables and fruits [S].
- [6] 易军, 李云春, 弓振斌, 等. 茶叶中多种农药残留的气相色谱法测定[J]. 厦门大学学报, 2002, 41(3): 334-339.
Yi J, Li YC, Gong ZB, *et al.* Determination of pesticide residues in tea by gas chromatography [J]. J Xiamen Univ, 2002, 41(3): 334-339.
- [7] 刘虎威. 气相色谱方法及应用[M]. 北京: 化学工业出版社, 2003: 19-81.
Liu HW. GC method and its application [M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2003: 19-81.
- [8] 丁蕊艳. 气相色谱法测定棉籽中高效氯氰菊酯残留[J]. 山东农业科学, 2012, 44(8): 116-118.
Ding RY. Residue determination of beta-cypermethrin in cotton seed by GC [J]. Shandong Agric Sci, 2012, 44 (8): 116-118.
- [9] 单娟, 姚国旗, 王文博, 等. 气相色谱法测定玉米中的高效氯氰菊酯残留[J]. 山东农业科学, 2010, (6): 98-100.
Shan J, Yao GQ, Wang WB, *et al.* Gas Chromatographic Analysis of Beta-cypermethrin Residue in Maize [J]. Shandong Agric Sci, 2010, (6): 98-100.
- [10] 方学智, 费学谦, 丁明, 等. 玉米中氯氰菊酯、溴氰菊酯 SPE 净化及不确定度分析[J]. 农药, 2009, 48(2): 127-129.
Fang XZ, Fei XQ, Ding M, *et al.* Purification of Permethrin and Deltamethrin in Maize by SPE and Evaluation of Uncertainty [J]. Agrochemicals, 2009, 48(2): 127-129.
- [11] 殷春杭, 钱允霖, 王志强. 蔬菜中高效氯氰菊酯等农药残留分析方法[J]. 中国测试技术, 2007, 33(7): 118-120.
Yin CH, Qian YP, Wang ZQ. Determination of high effect cypermethrin and fenvalerate in vegetables [J]. China Measurement Technol, 2007, 33(7): 118-120.
- [12] 刘腾飞, 顾俊荣, 邓金花, 等. 气相色谱法测定生菜中的高效氯氰菊酯残留[J]. 光谱实验, 2013, 30(6): 2841-2845.
Liu TF, Gu JR, Deng JH, *et al.* Residue determination of β -cypermethrin in lettuce by gas chromatography [J]. Chin J Spectrosc Lab, 2013, 30(6): 2841-2845.
- [13] 钟焕开. 高效氯氰菊酯生产工艺研究[J]. 广东农业科学, 2006, 5: 94-95.
Zhong HK. Production process of cypermethrin [J]. Guangdong Agric Sci, 2006, 5: 94-95.
- [14] 朱旭君, 侯如燕, 宛晓春. 凝胶色谱净化-气相色谱法测定茶叶中 9 种残留方法的研究[J]. 安徽农业大学学报, 2009, 36(1): 105-109.
Zhu XJ, Hou RY, Wan XC. Determination of 9 residues in tea by gel permeation chromatography and gas chromatography [J]. J Anhui Agric Univ, 2009, 36 (1): 105-109.
- [15] 杨振华, 魏朝俊, 赵建庄, 等. SPE-GC 法同时检测草莓中 7 种常用农药的残留[J]. 农业环境科学学报, 2012, 31(11): 2304-2308.
Yang ZH, Wei ZJ, Zhao JZ. Simultaneous Determination of the Residue of Seven Commonly-used Pesticides in Strawberry with Solidphase Extraction and Gas Chromatography [J]. J Agro-Environ Sci, 2012, 31 (11): 2304-2308.

(责任编辑: 赵静)

作者简介



史少然, 硕士, 主要研究方向为食品农药残留。

E-mail: shishaoran666@163.com



梁丹, 实验师, 主要研究方向为农药残留分析。

E-mail: liangdany@ sina.com