

QuEChERS-气相色谱分析高原夏菜中 有机磷农药残留

叶永丽¹, 赫欣睿¹, 陈士恩^{1*}, 高旭东¹, 马忠仁^{1,2}

(1. 西北民族大学 生命科学与工程学院, 兰州 730030;

2. 西北民族大学 甘肃省动物细胞工程技术研究中心, 甘肃 兰州 730030)

摘要: **目的** 建立同时测定高原夏菜中甲胺磷、敌敌畏、乙酰甲胺磷等 12 种有机磷农药残留的 QuEChERS-气相色谱(quick, easy, cheap, effective, rugged, safe-gas chromatography, QuEChERS-GC)分析方法。**方法** 样品用乙腈进行超声辅助提取, 提取液经 N-丙基乙二胺(PSA)和石墨化炭黑(GCB)进行分散固相萃取净化, 气相色谱-火焰光度检测器(GC-FPD)进行分析测定, 外标法定量。**结果** 12 种有机磷农药的检出限范围为 3.4~20.8 µg/kg, 相对标准偏差在 2.95%~8.44%之间, 平均回收率范围为 83.17%~102.62%。**结论** 方法前处理操作简单, 检测的重复性好、精密度高, 可满足对蔬菜中多种有机磷农药残留的同时分析。

关键词: 气相色谱法; 高原夏菜; 有机磷农药残留

Determination of organophosphorus pesticide residues in plateau summer vegetables by QuEChERS-gas chromatography

YE Yong-Li¹, HE Xin-Rui¹, CHEN Shi-En^{1*}, GAO Xu-Dong¹, MA Zhong-Ren^{1,2}

(1. College of Life Sciences and Engineering, Northwest University for Nationalities, Lanzhou 730030, China;

2. Animal Cell Engineering & Technology Research Center of Gansu, Northwest University for Nationalities, Lanzhou 730030, China)

ABSTRACT: Objective To establish a gas chromatography method for simultaneously determination of 12 kinds of organophosphorus pesticide residues (OPPs) in plateau summer vegetables. **Methods** Samples were extracted by acetonitrile assisted with ultrasonic, cleaned up by dispersive solid phase extraction combining with GCB and PSA. The targets were analyzed by GC-FPD using an external standard method. **Results** The detection limits and the average recoveries were ranged from 3.4 to 20.8 µg/kg, and 83.17% to 102.62%, respectively, the relative standard deviation (RSD) was between 2.95%~8.44%. **Conclusion** The pretreatment of this method is simple, and has a good repeatability and high precision which can meet the need of OPPs analysis in vegetables.

KEY WORDS: gas chromatography; plateau summer vegetable; organophosphorus pesticide residues

基金项目: 甘肃省农牧厅现代农业生产发展资金([2014]349)、教育部创新团队发展计划(IRT13091)

Fund: Supported by the Modern Agricultural Production Development Funds of Gansu Province ([2014]349), the Ministry of Education Innovation Team Development Plan (IRT13091)

*通讯作者: 陈士恩, 教授, 主要研究方向为食品安全与品质控制。E-mail: chshien@163.com

*Corresponding author: CHEN Shi-En, Professor, College of Life Sciences and Engineering, Northwest University for Nationalities, Lanzhou 730030 China. E-mail: chshien@163.com

1 引言

有机磷农药是继有机氯农药后的第二代使用量最大的农药, 在杀虫、杀菌、除草、植物的生长调节中均有广泛应用。尽管有机磷农药对农作物生长和提高产率效果显著, 但是为达到预期效果过量使用和滥用会导致其在成熟农作物中的残留水平超过规定的最大残留量(MRLs), 会影响到农产品质量和产品的贸易, 甚至通过摄食对人体产生毒害作用^[1,2]。有机磷农药的毒性作用主要表现为高效抑制乙酰胆碱酶的活性(AChE), 引起神经组织和神经肌肉交叉点的神经递质(ACh)-乙酰胆碱的大量积聚, 从而破坏 Ach 正常传导功能。早期有机磷农药染毒可使得机体的神经系统处于亢奋状态, 随后逐渐转入衰竭状态^[3-5]。根据暴露途径、剂量和杀虫剂残留类型不同的影响程度从轻微(流涎、颤动)到严重(惊厥、癫痫、瘫痪、死亡)不等^[6]。近年来因有机磷农药高残留而引起食物中毒的事件时有发生, 严重影响消费者健康。因此, 加强对农药残留监控意义重大, 而建立简便、快捷且灵敏度高、成本低的检测手段则非常有必要。

兰州市榆中县是高原夏菜和西北内陆出口蔬菜的重要产区。由于昼夜温差大、气候干燥, 光照充足等明显的地理优势, 生长的蔬菜品质好且含水量少, 对储藏和长途运输有利, 在跨区域贸易上占优势^[7]。近几年来向无公害蔬菜种植的转型发展使得当地农民经济收益更为可观, 但如何确保农药的安全合理使用仍是无公害蔬菜生产的关键因素之一。在农药残留检测的相关报道中, 固相萃取^[8,9]、固/液相微萃取^[10-12]、加速溶剂萃取^[13,14]、QuEChERS^[15]法等是近年来发展迅速的提取、净化方法。其中 QuEChERS 法具有快速、简便、稳定、可靠以及成本低等优点, 自问世以来便迅速在各检测领域中发挥重要作用。本文针对蔬菜样品的特点优化有机磷农药残留检测前处理优化的基础上, 采用 QuEChERS-气相色谱法检测分析高原夏菜中 12 种有机磷农药残留, 以期在当地农药品种的合理选择和使用提供参考性依据。

2 材料与方法

2.1 材料与试剂

高原夏菜样品, 采自兰州市榆中县不同种植基地(2014 年 9 月~10 月间), 分 3 个批次取样共 150

份, 包括白菜、芹菜、花椰菜、青花菜、青椒菜等 8 个品种。

甲胺磷、敌敌畏、乐果、马拉硫磷、氧化乐果、对硫磷、甲基对硫磷、甲拌磷、二嗪磷、乙酰甲胺磷、久效磷、皮蝇磷标准品(100 $\mu\text{g/mL}$, 北京海岸鸿蒙标准物质技术有限责任公司)。甲醇、乙腈(色谱级, 天津光复); 丙酮(重蒸)、氯化钠(NaCl)、无水硫酸镁(用于前于马弗炉中 560 $^{\circ}\text{C}$ 灼烧 4 h, 干燥器内冷却)为分析纯; 活性炭(盐酸浸泡过夜, 用去离子水洗去氯离子后干燥备用); 石墨化炭黑(GCB, 天津博纳艾尔公司); N-丙基乙二胺(PSA, 美国 sigma 公司)。

2.2 仪器设备

GC-2014C 气相色谱仪(具 FPD 检测器, 日本岛津); UV 2000 紫外-可见分光光度计(美国 Foss 公司); AB204-S 电子天平(瑞士梅特勒-托利多公司), 数控定时超声波清洗器(上海声彦超声波仪器有限公司), YGC-36 氮吹仪(成都雅源科技有限公司), H2050R 台式高速冷冻离心机(长沙湘仪离心机仪器有限公司), DK-8D 型电热恒温水槽(上海精宏实验设备有限公司)。

2.3 方法

2.3.1 样品提取及净化

准确称取 10.0 g 均质样品于 50 mL 离心管中, 加入 10 mL 乙腈, 超声 5 min, 过滤到放有 1.0 g 氯化钠的离心管中, 振摇待水相和有机相分层后再加入 2.0 g 无水硫酸镁, 继续振摇 2 min, 以 5000 r/min 离心 5 min。取上清液 5 mL 于另一装有适量净化剂的离心管中, 振摇 1 min 后 8000 r/min 离心 3 min。吸取上清液 2 mL 氮气浓缩至近干, 丙酮定容至 1.0 mL, 0.22 μm 滤膜过滤到进样小瓶中待测。

2.3.2 气相色谱条件

色谱柱: Inert Cap Pesticide(30 $\text{m} \times 0.25 \text{ mm}$, 0.25 μm); 进样口温度: 250 $^{\circ}\text{C}$; 检测器温度: 280 $^{\circ}\text{C}$; 程序升温: 初温 100 $^{\circ}\text{C}$ 保持 1 min, 然后以 50 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升至 150 $^{\circ}\text{C}$, 保留 1 min, 再以 10 $^{\circ}\text{C}$ 升至 260 $^{\circ}\text{C}$, 保留 7 min。分流比 5:1, 流速 1.2 mL/min, 进样量 1.0 μL 。

2.3.3 标准曲线绘制

取 1.0 mL 空白样品提取液置于进样小瓶中, 氮气吹干后加入一定量的 12 种混合农药标准溶液, 用丙酮进行稀释, 使得基质匹配标准溶液的质量浓度

分别为 0、0.5、1.0、1.5、2.0、3.0、4.0、5.0 $\mu\text{g/mL}$ 。每浓度平行测定 6 次,以对应的峰面积为纵坐标,浓度为横坐标作标准曲线。

3 结果与讨论

3.1 前处理条件选择

3.1.1 样品提取方法确定

乙腈、丙酮、乙酸乙酯等是农残检测中常用的提取溶剂。用乙酸乙酯提取时容易增加非极性物质的干扰,如蜡质、脂肪等;丙酮提取对极性较强的农药效果好,但溶液溶解的色素多,也增加后续净化工作量;乙腈对大多数的农药具有良好的溶解性,对净化要求低,故实验选择乙腈作为提取溶剂。

超声辅助提取可有效缩短提取时间,加快目标物进入有机相的速度。Berijani 等^[16,17]认为超声辅助提取可增加水相和有机相之间的接触面积以形成细小乳液,有利于提高提取效果。Cui 等^[18,19]考查了 0~50 min 未进行超声提取对农药的提取效果,结果显示提取时间的长短对提取效果无显著影响。而在超声辅助提取条件下,由于微细乳液在超声振动的前 5 min 内形成,农药的回收率在 0~5 min 内随时间增加而提高。且在超声过程中可加快目标物从水相转移到有机相中的传质速度。但当超声时间大于 5 min,提取效果有所下降。以此作参考,实验选择 5 min 作为超声提取时间。

基于 NaCl 的盐析效应,添加适量的 NaCl 可降低复合物在水相中的溶解度,使分析目标物充分地转

移到有机相中,有利于提高萃取效率^[12],但 Cui 等^[18]在对 NaCl 添加量考查的基础上得到了农药回收效果随 NaCl 的添加量增加而降低的结果,故本实验选择 NaCl 的添加量为 1.0 g,以保证水相和有机相的有效分离及获得较好的回收效果。

3.1.2 样品净化剂的选择

蔬菜样品尤其是绿色蔬菜样品的基质复杂,若不通过净化处理而直接进样分析会污染甚至堵塞色谱柱,降低设备的使用寿命,且基质干扰不利于对结果的分析^[20]。实验选择活性炭、GCB 分别与 PSA、无水硫酸镁混合作为净化处理剂,考察 2 者对油麦菜和娃娃菜 2 种深色和浅色蔬菜的脱色效果和以油麦菜为空白样品的 4 种有机磷农药回收效果的影响,结果分别见图 1、2。

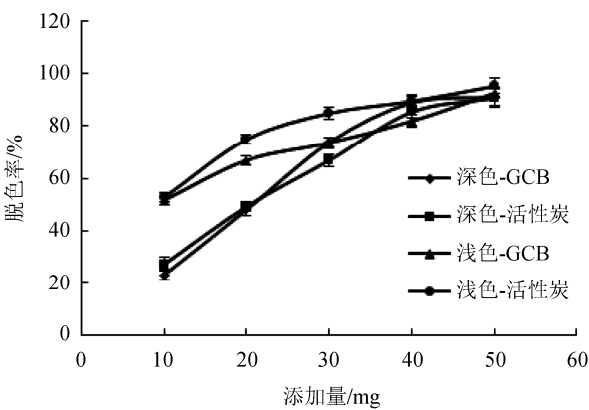


图 1 活性炭、GCB 添加量对样品脱色效果影响
Fig. 1 Effects of activated carbon and GCB dosages on decolorizing

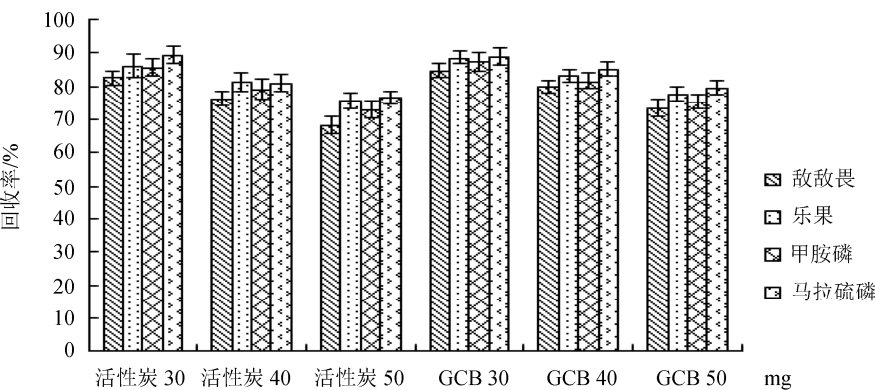


图 2 活性炭、GCB 添加量对有机磷农药回收效果影响
Fig. 2 Effects of activated carbon and GCB dosages on recoveries of 4 kinds of OPPs

PSA 对基质中的脂肪酸、碳水化合物和部分极性色素的净化效果好, 但脱色效果不如活性炭和 GCB, 色素残留多会严重影响基质效应, 故常与其它脱色剂一起混合使用以提高净化效果。活性炭和 GCB 对色素的吸附能力强, 是常用的脱色剂。由图 1 可看出, 两者对深色蔬菜的脱色效果差异不大, 对浅色蔬菜的脱色效果活性炭要比 GCB 效果稍好。但结合图 2 对有机磷农药的回收效果考虑, 由于活性炭对农药有不可逆的吸附作用, 添加量越高, 农药回收率下降越显著。GCB 在添加量为 30~50 mg(10、20 mg 两水平添加时色素较深, 为保护色谱柱未进样分析) 范围内农药回收率也有下降的趋势, 但较相同添加量下活性炭的回收率下降趋势慢。有文献资料显示, GCB 量增加对色素脱除显著, 但对基质中其它干扰

物的影响小, 且会影响回收率故也需控制其添加量^[21]。综合考虑, 实验选择 GCB 作为色素吸附剂, 添加量为 30 mg, 与 PSA 和无水硫酸镁混合作净化剂。

3.2 线性关系

准确吸取系列浓度的标准工作液进样分析, 结果以峰面积为纵坐标, 对应的浓度为横坐标作标准曲线并进行回归分析, 结果见表 1。

由表 1 可知, 12 种农药在相应的质量浓度范围内, 相关性良好, 相关系数均大于 0.996, 连续 6 次进样的峰面积相对标准偏差在 3.68%~9.45%之间, 重复性好。图 3 为空白基质中 12 种有机磷农药标准品在质量浓度为 5 μg/mL 下的色谱图, 峰分离度大于 1.5, 所选择的柱箱程序升温条件满足检测要求。

表 1 12 种有机磷农药的线性关系(n=6)
Table 1 Calibration curves of 12 kinds of OPPs (n=6)

农药名称	线性方程	相关系数 r^2	RSD/%
敌敌畏	$Y=2398.8X-471.9$	0.9968	9.45
甲胺磷	$Y=1895.5X+48.73$	0.9996	5.53
乙酰甲胺磷	$Y=1747.2X+226.15$	0.9986	8.93
氧化乐果	$Y=2034.87X-132.01$	0.9991	6.52
久效磷	$Y=3054.70X-523.71$	0.9985	8.02
甲拌磷	$Y=2014.2X-520.90$	0.9988	5.34
乐果	$Y=1099.4X+285.99$	0.9990	5.70
二嗪磷	$Y=2125.6X-581.5$	0.9978	6.72
皮蝇磷	$Y=4807.9X-714.5$	0.9988	9.12
马拉硫磷	$Y=6660.6X-842.57$	0.9994	7.25
甲基对硫磷	$Y=1428.1X-141.05$	0.9996	3.68
对硫磷	$Y=3939.4X-637.7$	0.9989	4.87

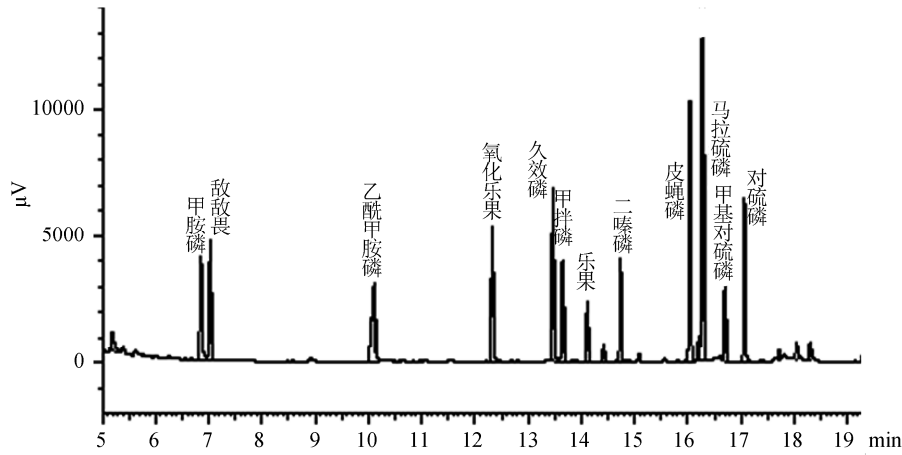


图 3 空白基质中 12 种农药标准品的色谱图
Fig. 3 Chromatogram of 12 kinds of OPPs standards in blank matrix

表 2 方法的回收率、精密度实验结果(n=6)
Table 2 Recoveries and precisions of method (n=6)

组分	添加量(μg/kg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)	LOD (μg/kg)	LOQ (μg/kg)
甲胺磷	5	86.03	85.72	4.05	6.1	20.3
	10	85.40		3.02		
敌敌畏	5	83.07	83.17	3.63	4.8	16.0
	10	83.26		4.01		
乙酰甲胺磷	5	89.19	89.82	3.72	20.8	69.33
	10	90.45		2.95		
氧化乐果	5	90.87	91.23	6.44	14.3	47.7
	10	91.59		5.50		
久效磷	5	100.34	102.62	8.44	4.7	15.7
	10	104.90		6.94		
甲拌磷	5	91.32	92.17	3.21	6.5	21.7
	10	93.02		3.77		
乐果	5	86.43	86.38	3.70	11.1	37.0
	10	86.32		4.78		
二嗪磷	5	92.86	94.30	6.83	5.7	19
	10	95.74		8.27		
皮蝇磷	5	81.93	83.68	4.32	3.4	11.3
	10	85.43		5.06		
马拉硫磷	5	91.17	91.41	5.09	3.5	11.7
	10	91.65		3.27		
甲基对硫磷	5	100.16	98.64	5.30	6.2	20.7
	10	97.12		4.98		
对硫磷	5	87.47	86.17	5.30	4.9	16.3
	10	84.87		6.33		

3.3 方法的精密度、回收率和检出限

用空白蔬菜样品进行 5、10 μg/kg 2 个加标水平的回收率试验, 每个水平重复进样 6 次, 同时考查方法的精密度, 并以 3 倍信噪比和 10 倍信噪比确定方法的检出限 (detection limit, LOD) 和定量限 (quantitation limit, LOQ), 结果见表 2。

从表 2 中结果可知, 在 5、10 μg/kg 2 个添加水平中, 12 种有机磷农药的平均回收率在 83.17%~102.62%之间, 2 水平的峰面积相对标准偏差 (RSD) 范围为 2.95%~8.44%, 重复性较好, 可满足农残检测对方法精密度的要求。

3.4 实际样品检测

对兰州市榆中县多个高原夏菜种植基地采得的样品采用优化后的条件进行处理, 并进行 GC 分析。其中 24 份样品中检测到含一种或多种有机磷农药残留, 检测量均在 0.8 mg/kg 以下。对比新发布实施的 GB 2763-2014《食品中农药最大残留限量》中对实验检测几类蔬菜中敌敌畏、甲胺磷、乐果等残留限量的规定^[22], 24 份样品的农药残留量均在允许的残留量范围内。第 3 批次样品结果中西兰花的乐果残留量为 (21.26±1.84) μg/kg < 50 μg/kg, 白菜和芹菜中检测到的敌敌畏的残留量较高 (平均残留量分别为

(312.76±46.21) μg/kg、(435.52±66.39) μg/kg)。

4 结 论

实验建立了同时测定蔬菜中敌敌畏、甲胺磷、乐果、乙酰甲胺磷等 12 种有机磷农药残留的 QuEChERS-GC 分析法。选择的气相色谱条件可将 12 种组分完全分离, 回收率在 83.17 % ~ 102.62 % 之间, 相对标准偏差 2.95% ~ 8.44%, 检出限范围为 3.4~20.8 μg/kg, 方法的重复性好、灵敏度和精密度高、检出限较低, 可满足对农残检测的要求。

参考文献

- [1] Sapbamrer R, Hongsibsong S. Organophosphorus pesticide residues in vegetables from farms, markets, and a supermarket around kwan phayao lake of northern Thailand [J]. Arch Environ Contam Toxicol, 2014, 67(1): 60–67.
- [2] Hou B, Wu LH. Safety impact and farmer awareness of pesticide residues [J]. Food Agric Immunol, 2010, 21(3): 191–200.
- [3] 高平, 黄国方, 谢晓琳, 等. 水产品中有机磷农药残留分析方法研究进展[J]. 广东农业科学, 2014, (15): 83–88.
Gao P, Huang GP, Xie XL, et al. Research progress in analysis method of organophosphorus pesticide residues in aquatic products [J]. Guangdong Agric Sci, 2014, (15): 83–88.
- [4] 王向红, 崔小军, 李昕, 等. 食品中有机磷农药检测方法研究进展[J]. 食品研究与开发, 2006, 27(11): 190–194.
Wang XH, Cui XJ, Li X, et al. Summarized of organophosphorus pesticide analysis method in food [J]. Food Res Dev, 2006, 27(11): 190–194.
- [5] 韩俊艳, 檀德宏, 王军, 等. 有机磷农药的神经发育毒性研究进展[J]. 中国工业医学杂志, 2010, 23(3): 199–202.
Han JY, Tan DH, Wang J, et al. Research progress on neural development toxicity induced by organophosphorus pesticides [J]. Chin J Ind Med, 2010, 23(3): 199–202.
- [6] Wang S, Yang S, Ren L, et al. Determination of organophosphorus pesticides in leeks (*Allium porrum* L.) by GC-FPD [J]. Chromatogr, 2009, 69(1–2): 79–84.
- [7] 刘润萍, 马丽荣. 兰州市高原夏菜发展现状及建议[J]. 农业科技通讯, 2010, (12): 34–38.
Liu RP, Ma LR. Current situation and adverses for plateau summer vegetables in Lanzhou city [J]. Bullet Agric Sci Technol, 2010, (12): 34–38.
- [8] Fuentes E, Báez M, Quiñones. Suitability of microwave-assisted extraction coupled with solid-phase extraction for organophosphorus pesticide determination in olive oil [J]. J Chromatogr A, 2008, 1207: 38–45.
- [9] Samadi S, Serashti H, Assadi Y. Ultra-preconcentration and determination of thirteen organophosphorus pesticides in water samples using solid-phase extraction followed by dispersive liquid-liquid microextraction and gas chromatography with flame photometric detection [J]. J Chromatogr A, 2012, 1219: 61–65.
- [10] Wu L, Song Y, Hu M, et al. Application of magnetic solvent bar liquid-phase microextraction for determination of organophosphorus pesticides in fruit juice samples by gas chromatography mass spectrometry [J]. Food Chem, 2015, 176: 197–204.
- [11] Seebunrueng K, Santaladchaiyakit Y, Srijaranai S. Vortex-assisted low density solvent liquid-liquid microextraction and salt-induced demulsification coupled to high performance liquid chromatography for the determination of five organophosphorus pesticide residues in fruits [J]. Talanta, 2015, 132: 769–774.
- [12] Hsin-Chang Chen, Wang-Hsien Ding. Determination of aqueous fullerene aggregates in water by ultrasound-assisted dispersive liquid-liquid microextraction with liquid chromatography-atmospheric pressure photoionization-tandem mass spectrometry [J]. J Chromatogr A, 2012, 1223: 15–23.
- [13] Liu H, Kong W, Gong B, et al. Rapid analysis of multi-pesticides in *Morinda officinalis* by GC-ECD with accelerated solvent extraction assisted matrix solid phase dispersion and positive confirmation by GC-MS [J]. J Chromatogr B, 2015, 974: 65–74.
- [14] Wu G, Bao X, Zhao Sh, et al. Analysis of multi-pesticide residues in the foods of animal origin by GC-MS coupled with accelerated solvent extraction and gel permeation chromatography clean up [J]. Food Chem, 2011, 126: 646–654.
- [15] Georgakopoulos P, Zachari R, Mataragas M, et al. Optimization of octadecyl (C₁₈) sorbent amount in QuEChERS analytical method for the accurate organophosphorus pesticide residues determination in low-fatty baby foods with response surface methodology [J]. Food Chem, 2011, 128: 536–542.
- [16] Berijani S, Assadi Y, Anbia M, et al. Dispersive liquid-liquid microextraction combined with gas chromatography-flame photometric detection: Very simple, rapid and sensitive method for the determination of organophosphorus pesticides in water [J]. J Chromatogr A, 2006, 1123(1): 1–9.
- [17] Moinfar S, Hosseini MM. Development of dispersive liquid-liquid microextraction method for the analysis of organophosphorus pesticides in tea [J]. J Hazard Mater, 2009, 169(1–3): 907–911.
- [18] Cui S, Chen Q, Wang W, et al. Ultra-preconcentration and determination of multiple pesticide residues in water samples

- using ultrasound-assisted dispersive liquid-liquid microextraction and GC-FID [J]. *Chromatogr*, 2013, 76(11-12): 671-678.
- [19] González-Curbelo MÁ, Hernández-Borges J, Borges-Miquel TM, *et al.* Determination of organophosphorus pesticides and metabolites in cereal-based baby foods and wheat flour by means of ultrasound-assisted extraction and hollow-fiber liquid-phase microextraction prior to gas chromatography with nitrogen phosphorus detection [J]. *J Chromatogr A*, 2013, 1313: 166-174.
- [20] 纪淑娟, 佐藤元昭. 有色蔬菜农药多残留检测样品预处理方法研究[J]. *食品科学*, 2007, 28(7): 411-414.
- Ji SJ, Sato M. Sample preparation methods for deep color vegetables in multi-residue analysis of pesticides [J]. *Food Sci*, 2007, 28(7): 411-414.
- [21] 梅婷, 吴荣顺, 魏波. 改良 QuEChERS-气相色谱-质谱法测定蔬菜中的有机磷[J]. *中国果蔬*, 2014, 34(6): 53-58.
- Mei T, Wu RS, Wei B. Improvement analysis on organophosphorus in vegetables by QuEChERS-GC-MS method in vegetables [J]. *China Fruit Vegetable*, 2014, 34(6): 53-58.
- [22] GB 2763-2014 食品中农药最大残留限量[S].
- GB 2763-2014 Maximum residue limits of pesticide in food [S].
- (责任编辑: 李振飞)

作者简介



叶永丽, 硕士研究生, 主要研究方向为食品安全与品质控制。
E-mail: yylhxp@163.com



陈士恩, 教授, 硕导, 主要研究方向为食品安全与品质控制方面研究。
E-mail: chshien@163.com