

气相色谱法检测卷心菜中啶虫脒和吡虫啉残留*

李广领,姜金庆,王自良,陈锡岭,张会英,闫慧慧,于文霞
(河南科技学院,河南新乡 453003)

摘 要: 采用模拟添加法,确立以 XAD-2 为柱填料,环己烷/乙酸乙酯[V(环己烷):V(乙酸乙酯)=1:1]为淋洗剂的柱层析法提取、净化残留于卷心菜中啶虫脒和吡虫啉的前处理方法;建立以中等极性 SUBTM-5 柱、色谱柱程序升温、FID/MSD 检测的气相色谱残留样品确证性检测方法。结果显示,优化色谱条件下啶虫脒和吡虫啉出峰时间均不超过 8 min,且在 0.5~100 μg·L⁻¹ 内有良好的线性响应,啶虫脒为 $Y=11.599X+221.578(r^2=0.9955)$,吡虫啉线性回归方程为 $Y=179.751X+2592.787(r^2=0.9974)$,啶虫脒和吡虫啉最小检出量分别为 3.5×10^{-7} mg 和 5.1×10^{-7} mg,残留样本的平均前处理时间均不超过 20 min,它们在 0.25、0.5 和 1.0 mg·kg⁻¹ 添加水平下的平均添加回收率均大于 75%,各添加量 6 次测定值的相对标准偏差均小于 5%,啶虫脒和吡虫啉的定量检测限分别为 0.005 3 和 0.007 1 mg·kg⁻¹。表明该残留样本前处理方法和样品检测方法简便、高效、经济、可靠。

关键词: 卷心菜;农药残留;啶虫脒;吡虫啉;柱层析;气相色谱法;测定

中图分类号:S481⁺.8 文献标识码:A 文章编号:1004-1389(2010)09-0071-04

Determination of Acetamiprid and Imidacloprid Residue
in Cabbage by Gas Chromatography

LI Guangling, JIANG Jinjing, WANG Ziliang, CHEN Xiling,
ZHANG Huiying, YAN Huihui and YU Wenxia

(Henan Institute of Science and Technology, Xinxiang Henan 453003, China)

Abstract: The sample pretreatment method of XAD-2 column chromatography was build by the modeling addition experiment and the confirmatory detection method was established by GC-FID/MSD to acetamiprid and imidacloprid residue in cabbage. The result indicated that: (i) The retention time of acetamiprid and imidacloprid were all less than 8 minutes under the optimization chromatography conditions and the calibration curve of peak area (Y) and mass density of pesticide (X) was linear, which were $Y=11.599X+221.578(r^2=0.9955)$ and $Y=179.751X+2592.787(r^2=0.9974)$ respectively, and the minimum detectable quantity were respectively 3.5×10^{-7} mg and 5.1×10^{-7} mg. (ii) By the sample pretreatment method, the treatment time was less than 20 minutes to the residue sample, and the obtained average recovery ratios were all above 75%, the relative standard deviations were all less 5%. And the minimum detectable concentration were respectively 0.005 3 mg·kg⁻¹ and 0.007 1 mg·kg⁻¹ to this method. So the obtained sample pretreatment method and the residue sample detection method was simple process, good treatment effect, low operation cost, and stable reliability.

Key words: Cabbage; Pesticide residue; Acetamiprid; Imidacloprid; Column chromatography; Gas chromatography; Determination

* 收稿日期:2009-12-14 修回日期:2010-04-17
基金项目:国家“十一五”科技支撑计划重大专项(No. 2006BAK02A21/1)。
第一作者:李广领,男,硕士,讲师,从事农药残留检测技术研究。E-mail:liguangling@hist.edu.cn

卷心菜(*Brassica oleracea* L.)营养丰富,味道鲜美,既可生吃又可熟食。富含叶酸、人体必需的多种微量元素、氨基酸、维生素、胡萝卜素、尼克酸、蛋白质等,有补髓、壮骨、利关节、利五脏、调六腑、清热止痛等功效^[1]。值得关注的是在美国癌症研究会(AACR)癌症预防研究会前沿大会上,公布了“饮食与癌症风险的最新研究”,证实卷心菜中含有能分解亚硝酸胺的酶,具有抗癌作用^[2]。卷心菜因其耐寒、耐高温、抗病、耐贮运、产量高,是中国东北、西北、华北等地区春、夏、秋季的主栽蔬菜之一^[3],在中国蔬菜周年供应中起到了重要作用,同时也是重要的出口蔬菜。

啉虫脒(Acetamiprid)和吡虫啉(Imidacloprid)均属 AchR 型氯化烟碱类杀虫剂,它们以高效、速效、长效、广谱及独特的杀虫机理和多重作用机制受到各国农药专家的极大关注,是目前呼声最高的蔬菜生产上防治刺吸式口器害虫的两个农药新品种^[4]。随着刺吸式口器害虫为害的逐年加重,啉虫脒和吡虫啉在卷心菜上大量应用,其残留量超标问题越来越引起广大消费者的关心。近年来,美国、日本和欧盟等许多发达国家和国际组织已制定了详细的卷心菜产品安全标准,以保证消费者安全,如美国规定卷心菜中啉虫脒的 MRL 为 $1.2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 、吡虫啉为 $0.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ^[5];而日本首肯列表中的一致标准则统一规定为 $0.01 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。目前,关于啉虫脒和吡虫啉在蔬菜上残留的检测法主要为色谱法^[6-7],这类方法费时、费工、费溶剂。本研究拟建立价廉、易得的大孔吸附树脂短柱层析净化卷心菜中啉虫脒和吡虫啉多残留的前处理方法,及确证性的气质联用残留检测方法。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

Trace DSQII 型气质联用仪(美国 Finnigan 公司),MTN-2800D 型氮吹浓缩装置(天津奥特赛恩斯仪器有限公司),TA2004N 型电子天平(上海精密科学仪器有限公司),DS-52 型匀浆机(上海标本模型厂),RE-52 型旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂)等。

丙酮、乙酸乙酯、环己烷、活性炭、氯化钠、无水硫酸钠等购于天津科密欧试剂开发中心,均为 A.R 级;XAD-2 购于郑州树脂厂。啉虫脒和吡虫啉标样(质量分数均大于 99.5%)购于北化恒信生物

技术公司。玻璃层析柱(长 10 cm,内径 0.5 cm)。

1.2 方法

置 10 g XAD-2 于 100 mL 环己烷/乙酸乙酯[V(环己烷):V(乙酸乙酯)=1:1]中 2 h,使之充分吸涨,然后利用氮气压力转移吸涨的树脂至玻璃层析柱。分别吸取 1 mL 质量浓度为 $0.5 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 啉虫脒和吡虫啉标准液,注入层析柱,用环己烷/乙酸乙酯[V(环己烷):V(乙酸乙酯)=1:1]淋洗,每 1 mL 流出液收集于 1 个离心管中,测取各时段淋洗液中农药含量,绘制流出曲线,确定洗脱液的收集体积。

取新鲜卷心菜去根后切碎、匀浆,按 0.25 、 0.5 和 $1.0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的添加量分别对两种农药做 3 个水平的添加回收试验。具体过程为:分别把 $0.5 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的啉虫脒和吡虫啉标准液添加于装有 50 g 卷心菜匀浆物的三角瓶中,使匀浆物中两种农药含量等于添加量。然后每个三角瓶中加入 10 mL 丙酮、1 g 氯化钠和 5 g 无水硫酸钠,中速震荡 10 min 后,样品液离心、浓缩,定容至 1 mL。最后对样品提取液过柱净化,收集规定时段的样品洗脱液,浓缩、定容后,用气相色谱外标法定量,每个添加水平平行测定 6 次,计算添加回收率和标准偏差。另外,省去添加农药步骤,按与上述完全相同的步骤分别进行溶剂和样本空白试验,以确定溶剂和样本背景及提取过程中是否存在干扰性样本基质。

1.3 气相色谱条件

以中等级性的 SUBTM-5 型柱(15 m×0.25 mm,涂膜厚度 $1 \mu\text{m}$)为分析柱,载气为高纯氮,进样量 $1 \mu\text{L}$,设置进样口、色谱柱、检测器温度,载气流速等参数。分别以 $0.5 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 啉虫脒和吡虫啉标准液进样,并逐步优化色谱条件,得两种农药的最佳出峰条件。再以 1:1 的体积比配制啉虫脒($0.5 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$)和吡虫啉($0.5 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$)的混合标样进样,研究啉虫脒和吡虫啉混合样品的最佳色谱分离条件。

1.4 质谱条件

电离方式为电子轰击离子化(EI);电离能量 70 eV;测定方式为选择离子监控(SIM);离子源温度 $210 \text{ }^{\circ}\text{C}$;溶剂延迟 2 min。

1.5 线性范围及定性检测限

配制 $0.5 \sim 100 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 系列质量浓度的啉虫脒和吡虫啉标准溶液,在本方法确定的试验条件下用 GC-FID 外标法进行色谱定量,以峰面积

(Y)对质量浓度(X)进行线性回归。同时在该线性范围内通过降低进样量,以信噪比为 3($S/N=3$)作为定性检测限,以信噪比为 10($S/N=10$)作为定量检测限^[8-9]。

2 结果与分析

2.1 色谱条件的优化

试验发现,载气流速 $2\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$,进样口温度 $280\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、色谱柱初温 $180\text{ }^{\circ}\text{C}$ (保持 1 min)、以 $30\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ 升温至 $230\text{ }^{\circ}\text{C}$ (保持 2 min)、以 $25\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ 升温至 $260\text{ }^{\circ}\text{C}$ (保持 2 min)、以 $15\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ 升温至 $280\text{ }^{\circ}\text{C}$ (保持 2 min),可获得啉虫脒和吡虫啉稳定的出峰效果(图 1)。图 2-A 中 $m/z=224.20$ 的碎片离子为啉虫脒的分子离子峰;

图 2-B 中 $m/z=256.24$ 的碎片离子为吡虫啉的分子离子峰。

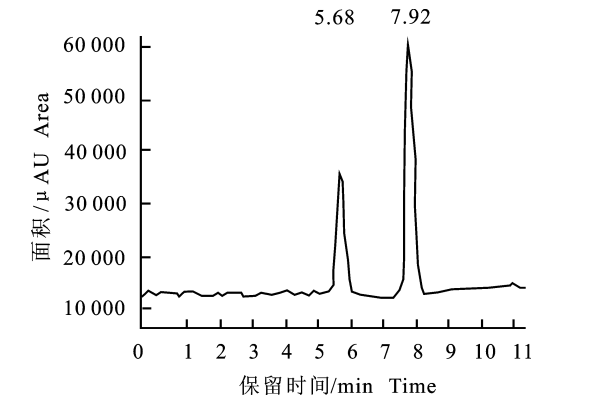
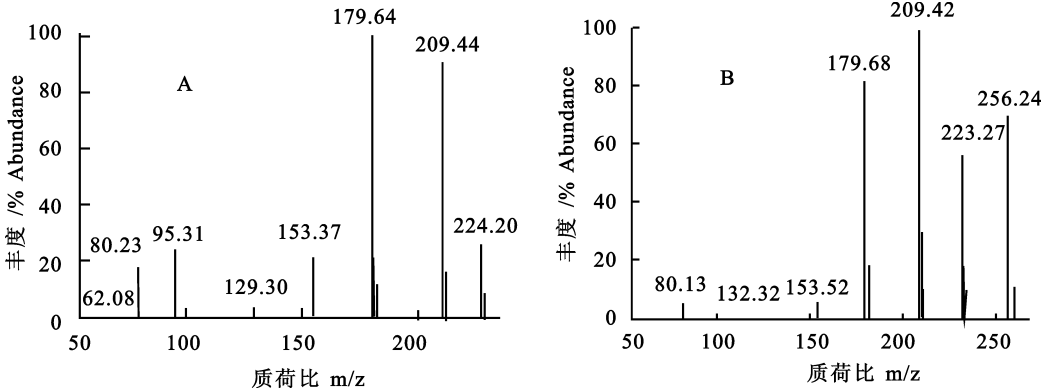


图 1 啉虫脒和吡虫啉标准样品的总离子流色谱图
Fig. 1 TIC chromatogram of the detected pesticide standards



A. 保留时间为 5.68 min Rt=5.68 min; B. 保留时间为 7.92 min Rt=7.92 min

图 2 两组分负离子模式质谱图
Fig. 2 ESI-MS of the two components

2.2 线性范围及定性检测限

用“1.5”中方法测得啉虫脒的线性回归方程为 $Y=11.599 X + 221.578(r^2=0.9955)$,吡虫啉的为 $Y=179.751 X + 2592.787(r^2=0.9974)$ 。啉虫脒和吡虫啉的最小检出量分别为 3.5×10^{-7} 和 $5.1\times10^{-7}\text{ mg}$,啉虫脒和吡虫啉的定量检出限分别为 0.0053 和 $0.0071\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。

2.3 啉虫脒和吡虫啉在卷心菜中的添加回收率

2.3.1 啉虫脒和吡虫啉在 XAD-2 柱上的保留特性 从图 3 可以看出,啉虫脒主要在第 9~17 mL 间流出,吡虫啉主要在第 9~19 mL 间流出,因而样本过柱净化时只需收集第 9~19 mL 时段的样品流出液就可较好地回收目标农药。

2.3.2 啉虫脒和吡虫啉残留的柱层析提取与净化效果 由图 4 可以看出,啉虫脒和吡虫啉出峰时间范围内无杂质干扰峰出现。表 1 结果显示,啉虫脒和吡虫啉在卷心菜中的添加回收率均大于

75%,各添加量 6 次测定值的相对标准偏差均小于 5,说明以 XAD-2 为柱填料、以环己烷/乙酸乙酯 $[V(\text{环己烷}):V(\text{乙酸乙酯})=1:1]$ 为淋洗液的柱层析净化技术可以用于两种农药残留样本的净化。

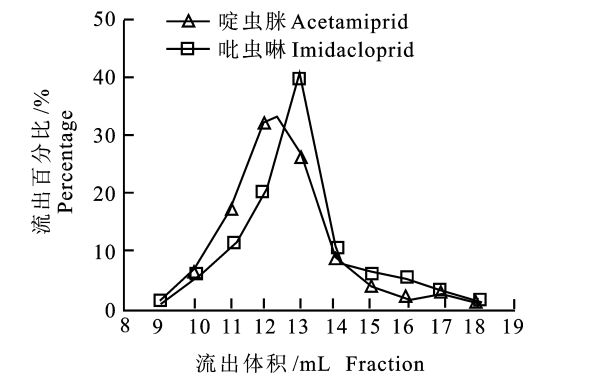


图 3 啉虫脒和吡虫啉在凝胶柱上的淋洗曲线
Fig. 3 GPC elution curves of the standard sample of Acetamiprid and Imidacloprid

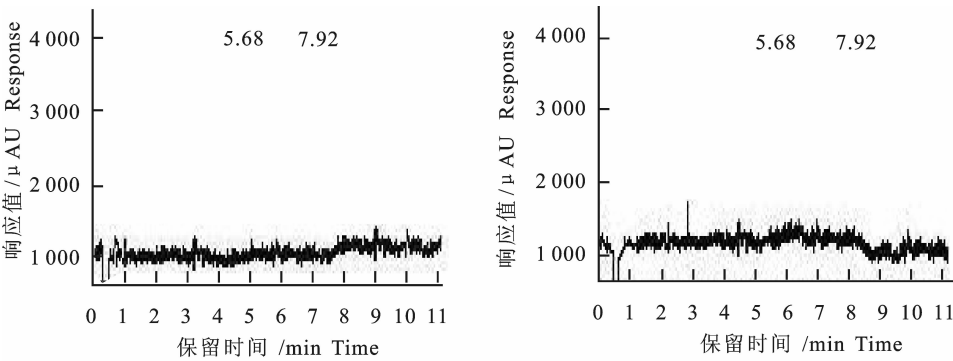


图 4 溶剂空白(左)和样本空白(右)色谱图

Fig. 4 Chromatogram of solvent (left) and sample blank (right)

2.4 实际样品的测定

分别从 3 个农贸市场购买 8 批次卷心菜产品,测定其中啶虫脒和吡虫啉的含量,结果所有样品中均未检出这两种目标物。

表 1 两种农药的添加回收率和精密度 (n=6)

Table 1 Recovery and precision of acetamiprid and imidacloprid determination(n=6)

农药 Pesticide	添加水平 /(mg·kg ⁻¹) Added level	回收率 /% Recovery	变异系数 /% CV
啶虫脒 Acetamiprid	0.25	86.32	4.13
	0.5	93.64	3.04
	1.0	108.37	4.55
吡虫啉 Imidacloprid	0.25	77.92	2.17
	0.5	82.37	3.01
	1.0	96.54	3.38

3 结 论

建立了匀浆、丙酮提取、浓缩提取液上XAD-2柱的卷心菜中啶虫脒和吡虫啉残留的前处理方法,和以 SUBTM-5 柱为分析柱,设定气相色谱柱程序升温,配以 FID/MSD 对残留于卷心菜中的啶虫脒和吡虫啉的确证性检测方法。所建立样品前处理方法简便、快速、实用性强,克服了传统蔬菜样本前处理过程费时、消耗有机溶剂量大和要求专用设备等问题;残留样本检测方法准确度与

精密度好、适用性强。本研究的相关内容扩充了残留于蔬菜,尤其是卷心菜中的这两种农药的仪器分析检测应用范围。

参考文献:

[1] 高志奎,李 明. 蔬菜栽培学各论[M]. 北京: 中国农业科学技术出版社, 2006: 140-141.

[2] Vainio H, Weiderpass E. Fruit and vegetables in cancer prevention[J]. Nutr Cancer, 2006, 54 (1) : 111-42.

[3] 刘玉梅,方智远. 我国甘蓝新品种选育与育种技术研究简述[J]. 当代蔬菜, 2006(10): 16-17.

[4] 周 育,庾 琴,侯慧锋,等. 新型烟碱类杀虫剂啶虫脒研究进展[J]. 植物保护, 2006, 32(3): 16-20.

[5] 潘灿平. 最新农药残留限量标准手册[M]. 北京: 中国计量出版社, 2006: 110, 111.

[6] Khay S, Abd El-Aty A M, Cho S K, *et al.* Development of extraction procedures for the determination of imidacloprid; application to residue analysis and dynamics of two formulations in Chinese cabbage[J]. Biomed Chromatogr, 2008, 22 (6) : 581-589.

[7] 卢声宇,徐敦明,李 捷,等. 气相色谱法测 5 种农产品中啶虫脒残留量[J]. 分析试验室, 2008, 27(S1): 7-9.

[8] 王晓菁,潘灿平,张 艳,等. 枸杞中吡虫啉、阿维菌素农药残留量的测定[J]. 西北农业学报, 2007, 16(2): 250-252, 256.

[9] 王建华,李广领,陈锡岭,等. 上海青中双甲脒和噻嗪酮农药残留分析[J]. 西北农业学报, 2008, 17(4): 191-195.