

# 苹果中毒死蜍农药残留的 GC-NPD 测定方法\*

梁俊<sup>1</sup>, 李海飞<sup>1,2</sup>, 赵政阳<sup>1</sup>

(1 西北农林科技大学 园艺学院, 陕西 杨凌 712100;

2 农业部 果品及苗木质量监督检验测试中心, 辽宁 兴城 125100)

[摘要] 通过对传统方法的改进, 建立了苹果中毒死蜍残留量的气相色谱简捷测定方法。该方法采用乙腈代替丙酮作为提取溶剂, 提取液杂质较少; 在玻璃衬管内填入石英玻璃棉用于样品净化, 用该方法测定的毒死蜍样品添加回收率为 92.55%~101.67%, 变异系数为 1.75%~10.20%, 最小检出限为 96.6 μg, 最小检出浓度为 19.3 μg/kg, 说明该测定方法的灵敏度、准确度和精密度完全可以满足苹果农药残留检测的技术要求。用该方法测定了施用毒死蜍果园富士和嘎拉苹果的农药残留, 结果与传统方法相符。

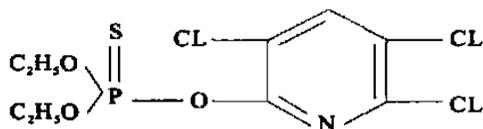
[关键词] 气相色谱; 苹果; 毒死蜍; 农药残留

[中图分类号] S481<sup>+</sup>.8; X132

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-9387(2006)07-0061-04

毒死蜍(Chlorpyrifos / Chlorpyrifos)是一种触杀性有机磷农药, 商品名称为乐斯本, 化学名称为 O,O-二乙基-O-(3,5,6-三氯-2-吡啶基)硫代磷酸酯。分子式为 C<sub>9</sub>H<sub>11</sub>Cl<sub>3</sub>NO<sub>3</sub>PS, 相对分子质量为 350.49, 化学结构式为:



毒死蜍具有内吸性, 作用迅速, 主要应用于谷物、水果、蔬菜、茶等农作物上, 在中性和弱酸性介质中水解缓慢, 有效期可达数月, 其残留问题应引起重视。关于毒死蜍分析方法国外已有报道<sup>[1-4]</sup>, 国内对毒死蜍残留量测定也有不少研究<sup>[5-8]</sup>, 但这些方法有的过程繁琐, 有的需要特殊设备。如汪军<sup>[9]</sup>使用 GC-MS 对西兰花中毒死蜍残留量进行分析, 线性关系良好, 最小检出限也较低(0.2 μg/kg), 但其设备昂贵; 国家标准<sup>[10]</sup>中毒死蜍农药的提取步骤较多, 且系统误差较大。关于毒死蜍在苹果中残留量的测定尚未见相关报道。GC-NPD 法是用气相色谱对待测组分进行分离, 用氮磷高选择性检测器对含氮、磷组分的农药进行测定的一种新方法。为此, 本试验对传统测定方法<sup>[11]</sup>进行了改进, 提出了一种简单、快速

测定毒死蜍的方法, 并用该方法对喷施过毒死蜍的苹果进行了农药残留量的测定, 结果与传统方法测定值相符。现将研究结果报道如下。

## 1 材料与方方法

### 1.1 供试材料

毒死蜍标准品(国家标准物质中心), 纯度 99.9%。标准品用石油醚稀释成 100 mg/kg 的贮备液, 密封保存。用时再稀释为所需浓度。

供试苹果样品采自陕西富平梅家坪镇试验果园, 品种为嘎拉和富士。田间喷药选用 48% 毒死蜍乳油(美国陶氏益农公司生产), 施药方法为常规喷雾。空白样为未喷施毒死蜍的相同品种。

### 1.2 方法与步骤

1.2.1 样品处理与提取 苹果样品由田间采回后, 不洗涤, 每个果实均匀切成 4 块, 取对角线部分作为分析样品, 切碎, 匀浆。

准确称取匀浆好的样品 20 g 于 250 mL 具塞三角瓶中, 加入 50 mL 乙腈(分析纯, 重蒸馏), 震荡提取 30 min 后过滤, 滤液收集到装有 5~7 g 氯化钠(分析纯, 于 120 °C 烘干过夜, 置于干燥器中备用)的分液漏斗中, 加塞, 猛烈震荡 2 min, 在室温下静置 10~15 min, 使乙腈相和水相分层。准确吸取 25 mL 乙腈溶液于 50 mL 浓缩瓶中, 在 40 °C 下用旋转蒸

\* [收稿日期] 2005-09-09

[基金项目] 国家“十五”重大科技专项(2001BA804A28); 国家“十五”科技攻关项目(2004BA516A10)

[作者简介] 梁俊(1963-), 男, 陕西高陵人, 副教授, 在读博士, 主要从事果树营养、品质和食品安全技术研究。

[通讯作者] 赵政阳(1964-), 男, 陕西富平人, 教授, 在读博士, 主要从事苹果育种栽培技术研究。

发仪浓缩近干,用丙酮(分析纯,重蒸馏)定容至 2 mL,12 000 r/min 离心 1 min,取出待测。

1.2.2 气相色谱条件 Varian CP-3800 气相色谱仪,氮磷检测器(NPD),Star-6 2 工作站;色谱柱(Varian):sil-cp-5 毛细管柱 0.25 mm × 15 m × 0.25 μm;柱温采用程序升温方式:从 150 开始以 10 /min 的升温速率升温到 220 ,并在该温度下保持 3 min;进样口温度:220 ;检测器温度:250 ;载气(N<sub>2</sub>)流速:30 mL/min,空气流速:175 mL/min,氢气(H<sub>2</sub>)流速:4.7 mL/min;不分流进样。

1.2.3 定性定量分析 采用外标法定性和定量。吸取 1.0 μL 标准溶液及待测液注入气相色谱仪中,以其保留时间来定性,以样品溶液峰面积与标准溶液峰面积比较来定量。定量公式如下:

$$R = \frac{F_a \times V_{end} \times V_{ex} \times W_{st}}{F_{as} \times V_{ri} \times V_i \times m}$$

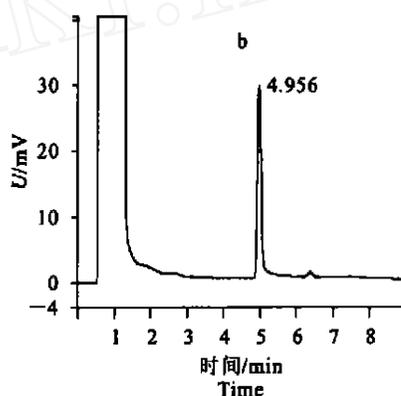
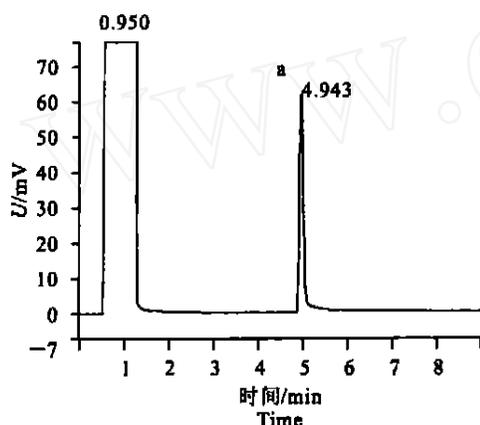


图 1 毒死蜱的色谱图

a 毒死蜱标准品(1.5 ng); b 处理 23 d 后的样品

Fig 1 GC diagram of chlopyrifos

a Standard chlopyrifos(1.5 ng); b Sample after treatment 23 days

## 2.2 GC-NPD 法检测的准确度与精密度

检测方法的准确度通常以全过程标准添加回收率来衡量,精密度以测定结果的变异系数来确定。以苹果果皮、果肉和全果为样品,分别添加 3 个浓度的毒死蜱标准溶液,每一浓度做 3 个平行样。添加后按 1.2 中的步骤进行样品处理和测定。由表 1 可知,全果中的添加回收率为 92.81% ~ 99.91%,变异系数为 1.75% ~ 7.19%;果皮中的添加回收率为 92.55% ~ 95.87%,变异系数为 2.81% ~ 4.64%;果肉中的添加回收率为 96.52% ~ 101.67%,变异系数为 2.35% ~ 10.20%。其准确度和精密度均达到农药残留分析要求<sup>[12-13]</sup>,果皮、果肉和全果中毒死蜱的回收率均高于粮食中的回收率(79.5% ~ 88.6%)<sup>[14]</sup>。

式中, $R$  为残留量,mg/kg; $F_a$  为与  $V_i$  相对应的峰面积, $\mu V \cdot s$ ; $V_{end}$  为样品溶液最终定容体积,mL; $V_{ex}$  为提取液总体积,mL; $W_{st}$  为标准溶液中分取的毒死蜱进样量,ng; $F_{as}$  为与  $W_{st}$  相对应的峰面积, $\mu V \cdot s$ ; $V_{ri}$  为从  $V_{ex}$  分取的溶液体积,mL; $V_i$  为从  $V_{end}$  分取的进样体积, $\mu L$ ; $m$  为样品质量,g。

## 2 结果与分析

### 2.1 保留时间和分离效能

NPD 是一种选择型检测器,其灵敏度受氮气、氢气和空气流速以及温度的影响很大。本试验结果(图 1)显示,采用摸索选定的气相色谱条件,标准品和样品的保留时间分别为 4.943 和 4.956 min,标准品色谱峰的理论塔板数为 13 536,说明该色谱条件毒死蜱能够得到良好分离,且分离效能高。

表 1 毒死蜱在苹果中的添加回收率

Table 1 Recovery rate of chlopyrifos in apple

样品 Sample	添加浓度/ (mg · kg <sup>-1</sup> ) Added concentration	添加回收率/% Recovery rate	变异系数/% C. V.
全果 Apple	0.5	99.91	7.19
	1.0	92.83	3.85
	2.0	92.81	1.75
果皮 Apple peel	0.5	95.87	2.81
	1.0	93.05	4.64
	2.0	92.55	3.51
果肉 Apple pulp	0.5	101.67	10.20
	1.0	96.52	2.35
	2.0	99.21	4.77

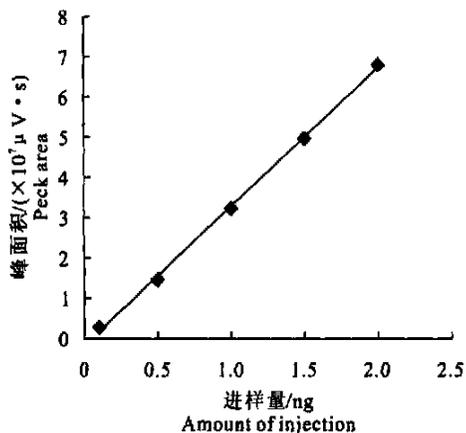


图 2 GC-NPD 法检测毒死蜍的线性关系

Fig. 2 Linear relation of chlopyrifos by GC-NPD

2.3 GC-NPD 法检测的灵敏度和线性关系

经反复试验表明, 在本试验色谱条件下, 毒死蜍在进样量为 0.131 93~ 2.020 8 ng 时与峰面积呈线性关系(图 2), 方程为:  $y = 344.481x - 16.526$  ( $R =$

0.998 9)。毒死蜍的最小检出限为 96.6 pg, 样品的最小检出浓度为 19.3 μg/kg, 低于粮食中的检出限 (0.05 mg/kg)<sup>[14]</sup>, 同时也低于我国无公害苹果规定毒死蜍农药最大残留限量 (MRL) 值 (1.0 mg/kg), 以及美国 (1.5 mg/kg)、日本 (1.0 mg/kg) 和欧盟 (0.5 mg/kg) MRL 值一个数量级。因此, 该方法的灵敏度完全可以满足农药残留检测的要求。

2.4 用 GC-NPD 法测定苹果中农药残留量

在试验果园对苹果树定时、定量喷施毒死蜍农药, 喷药后于不同时间对嘎拉和富士 2 个品种的果皮、果肉和全果的农药残留量进行了测定, 结果见表 2。由表 2 可以看出, 苹果中的农药残留量在喷药后 30 d 较喷药后 5 d 明显降低; 果皮、果肉及全果中的农药残留量不同, 其中果肉中最低, 喷药 30 d 后嘎拉和富士果肉中毒死蜍残留量仅为 0.005 和 0.003 mg/kg, 但仍可检出, 说明该测定方法的灵敏度很高。

表 2 结果还表明, 用该方法测定的苹果全果的毒死蜍残留与用传统方法测得的结果一致。

表 2 苹果中毒死蜍残留量的 GC-NPD 测定结果

Table 2 Residue analysis of chlopyrifos in apple by GC-NPD method

果种 Variety	毒死蜍浓度 Concentration	次数 Times	最后一次 施药时间 Date of last spray	喷药后 时间/d Day after treatment	残留量/(mg · kg <sup>-1</sup> ) Residues		
					果皮 Apple peel	全果 Apple	果肉 Apple pulp
富士 Fuji	1.1 000	1	08-07	5	0.504	0.177(0.165)	0.005
富士 Fuji	1.1 000	1	08-07	30	0.403	0.070(0.059)	0.003
嘎拉 Gala	1.1 000	3	06-09	5	0.625	0.185(0.187)	0.013
嘎拉 Gala	1.1 000	3	06-09	30	0.118	0.048(0.050)	0.005

注: 括号中数值为用传统方法<sup>[10]</sup>测定的结果。

Note: Data in parentheses were determined by traditional method<sup>[10]</sup>.

3 讨 论

样品预处理过程对苹果中农药残留的检测分析结果影响很大。因为蔬菜水果类样品的提取液中含有大量色素和其他杂质, 这些杂质会影响检测的准确度和精确度, 如何简单、有效地去除杂质, 对样品检测具有十分重要的意义。传统的方法<sup>[11]</sup>首先采用液-液分配, 将农药从丙酮中转移到石油醚中, 以除去大部分水溶性杂质, 而后经过中性氧化铝层析柱进行净化, 其回收率虽能满足农药残留分析的要求, 但其步骤较多, 系统误差较大。本试验中, 采用乙腈作为提取溶剂, 提取液杂质较少, 浓缩定容后, 经高速离心, 样品直接进样。在进样口的玻璃衬管中填入约 0.5 mg 石英玻璃棉以起到净化作用, 这既简化

了预处理步骤, 节省了溶剂, 又获得了较好的回收率, 且变异系数小, 提高了检出限。

在气相色谱分析中, 适宜的检测条件既要保证待测物的完全分离, 又要保证所有组分流出色谱柱, 且分析时间越短越好。色谱柱柱温的控制是重要的检测条件, 对于组成复杂的样品, 常需要采用程序升温来分离<sup>[15]</sup>。程序升温通过在不同阶段使用不同的升温速率, 以达到在不同阶段有不同的温度, 使待测物在适当的温度下流出。采用低的升温速率, 分离度高, 但分析时间长, 灵敏度低; 若用高的升温速率, 分析时间可缩短, 检测灵敏度也可提高, 但分离度下降, 影响定量分析结果。经过反复试验, 本试验采用从 150 开始以 10 /min 的升温速率升温到 220 , 并在该温度下保持 3 min 的程序升温方式, 其分

离效果好,检测灵敏度高,分析时间短。应用该方法 得到的结果一致。  
测定苹果样品中的毒死蜱残留与用文献[10]方法测

### [参考文献]

- [1] Schenck F J, Howard-King V. Rapid solid phase extraction cleanup for pesticide residues in fresh fruits and vegetables[J]. Bull Environ Contam Toxicol, 1999, 63: 277-281.
- [2] Manuela Correia, Cristian Delerue-Matos, Aminda Alves. Development of SPEM-GC-ECD methodology for selected pesticides in must and wine samples[J]. Fresenius J Anal Chem, 2001, 369: 647-651.
- [3] Sami Barrek, Olivier Paisse, Marie-Florence, et al. Determination of residual pesticides in olive oil by GC-MS and HPLC-MS after extraction by size-exclusion chromatography[J]. Anal Bioanal Chem, 2003, 376: 355-359.
- [4] Blasco C, Fernández M, Picó Y, et al. Comparison of solid-phase microextraction and stir bar sorptive extraction for determining six organophosphorus insecticides in honey by liquid chromatography-mass spectrometry[J]. Journal of Chromatography, 2004, 1030(1/2): 77-85.
- [5] 於幼鸿. 毒死蜱和氯氰菊酯的毛细管气相色谱分析[J]. 四川化工与腐蚀控制, 2003, 6(3): 13-14, 19.
- [6] 孟春校. 三唑磷、毒死蜱混合剂的高效液相色谱分析[J]. 浙江化工, 2003, 34(2): 12, 16.
- [7] 安燕萍, 马明东. 毒死蜱气相色谱分析研究[J]. 云南化工, 2002, 29(3): 29-30.
- [8] 陈帆, 陈欢林. 植物酯酶速测毒死蜱残留量的研究[J]. 环境科学与技术, 2005, 28(1): 48-50.
- [9] 汪军. GC-MS定性定量分析出口西兰花样品中毒死蜱的农药残留[J]. 现代农药, 2002, 1(1): 23-24.
- [10] 中国标准出版社第一编辑室. 农药残留国家标准汇编[M]. 北京: 中国标准出版社, 1999: 176-180.
- [11] 全国农药残留试验研究协作组. 农药残留量使用检测方法手册第二卷[M]. 北京: 化学工业出版社, 2001: 82-84.
- [12] 樊德方. 农药残留量分析与检测[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1982: 18-20.
- [13] 樊德方, 陈鹤鑫. 农药残留分析的规范[J]. 中国农业科学, 1983(3): 35-39.
- [14] 贺信, 王云凤. 气相色谱法测定食品中甲基毒死蜱等农药残留量的研究[J]. 口岸卫生控制, 1997, 2(1): 20-21.
- [15] 王龙根. 蔬菜中6种菊酯农药残留的检测[J]. 安徽农业科学, 2004, 32(1): 91, 108.

## Study on the determination method of chlorpyrifos pesticide residue in apple by GC-NPD

LIANG Jun<sup>1</sup>, LI Hai-fei<sup>1,2</sup>, ZHAO Zheng-yang<sup>1</sup>

(1 College of Horticulture, Northwest A & F University, Yangling, Shaanxi 712100, China;

2 Monitor & Test center of Fruit and Nursery Stock Quality, the Ministry of Agriculture, PRC, Xingcheng, Liaoning, 125100, China)

**Abstract:** Through improvement on tradition method, a rapid method to determine chlorpyrifos pesticide residues by gas chromatography in apple is established. Residue is extracted from an apple with an acetonitrile, and the extraction solution is comparatively cleaner. The average recoveries of the three spiked level of chlorpyrifos are from 92.55% to 101.67%, and the coefficient of variation are from 1.75% to 10.20% in an apple. The minimum detection limit of chlorpyrifos is 96.6 pg. It is a sensitive, simple and reliable method and the recovery rate and coefficient of variation are perfect. This method is applied to detect chlorpyrifos of Fuji and Gala apple, and the results are consistent with the biological metabolism of chlorpyrifos.

**Key words:** gas chromatography; apple; chlorpyrifos; pesticide residue