

实验技术与方法

固相萃取-毛细管柱气相色谱法测定韭菜中
甲拌磷及其代谢产物甲拌磷砒

张以春, 雍宗锋

(江苏省宿迁市疾病预防控制中心, 江苏 宿迁 223800)

摘要:目的 建立一种固相萃取-毛细管柱气相色谱法测定韭菜中甲拌磷及其代谢物甲拌磷砒含量的方法。方法 样品经乙腈提取后,用 C₁₈、PC/NH₂ 固相萃取柱对样品提取净化,用 DB-1701 毛细管柱气相色谱法进行测定。结果 当样品中分别添加甲拌磷和甲拌磷砒为 0.03、0.30、0.90 和 3.00 mg/kg 时,甲拌磷的平均回收率为 86.7%~93.2%,变异系数为 2.46%~4.76%;甲拌磷砒的平均回收率为 85.9%~92.5%,变异系数为 2.82%~4.31%。该方法检出限为 0.01 mg/kg,仪器检出限为 0.01 ng。结论 该法快速、准确、检测限低、精密度高,适用于韭菜中甲拌磷和甲拌磷砒的检测。

关键词:甲拌磷;甲拌磷砒;韭菜;固相萃取;毛细管柱气相色谱;农药残留;食品安全

中图分类号:S816.17 文献标识码:A 文章编号:1004-8456(2012)01-0034-04

Determination of phorate and its metabolite phorate sulfone in leek by solid phase extraction and capillary gas chromatography

Zhang Yichun, Yong Zongfeng

(Suqian Centers for Disease Control and Prevention, Jiangsu Suqian 223800, China)

Abstract: Objective To establish a solid phase extraction/capillary gas chromatography (SPE-GC) method to determine phorate and its metabolite phorate sulfone residue in leek. **Methods** After being extracted by acetonitrile, samples were further extracted and purified by C₁₈ and PC/NH₂ solid-phase extraction columns and then detected by capillary gas chromatography with DB-1701 column. **Results** As 0.03, 0.30, 0.90 and 3.00 mg/kg of both phorate and phorate sulfone being added to samples, average recoveries of phorate ranged from 86.7% to 93.2%, and its coefficients of variation ranged from 2.46% to 4.76%. Average recoveries of phorate sulfone ranged from 85.9% to 92.5% and its coefficients of variation ranged from 2.82% to 4.31%. The limit of detection of the method was 0.01 mg/kg and the limit of quantitation was 0.01 ng. **Conclusion** The method is rapid, accurate, sensitive and low in determination limit, thus applicable in the detection of phorate and phorate sulfone in leek.

Key words: Phorate; phorate sulfone; leek; solid phase extraction; capillary gas chromatography; pesticide residues; food safety

有机磷农药残留所引起的食品卫生安全问题受到广泛关注^[1]。甲拌磷俗名西梅脱,化学名称为O,O-二乙基-S-(乙硫基甲基)二硫化磷酸酯,是透明、有轻微臭味的油状液体。作为一种高效内吸性杀虫剂,甲拌磷具有杀虫效率高、易分解、对植物药害小等优点,主要用于防治地下蚜虫、害虫等^[2-3]。但同时甲拌磷是一种高毒农药,人体摄入后会抑制胆碱酯酶活性,造成神经生理功能紊乱,可导致呼吸衰竭死亡^[4]。虽然甲拌磷被管理部门禁用于蔬菜种植,但每年都有因食用头刀韭菜而发生甲拌磷

中毒的事件。甲拌磷在进入环境后,会发生代谢并产生毒性更大的甲拌磷砒^[5]。甲拌磷砒在环境中较为稳定,残留期比甲拌磷长^[6-8]。因此,测定韭菜中的甲拌磷及甲拌磷砒残留非常必要。

甲拌磷的分析检测方法主要是气相色谱法^[9-11],而甲拌磷砒的分析检测方法报道较少。余革中等^[5]采用液液萃取法提取土壤中的甲拌磷及甲拌磷砒,并用气相色谱法进行测定。然而,液液萃取法具有有机溶剂消耗大、步骤繁琐、萃取时间较长、净化效果不佳等缺点,尤其是植物中的色

收稿日期:2011-07-12

作者简介:张以春 男 副主任技师 研究方向为卫生理化检验

E-mail:sqdczyc@163.com

素不能完全除去。固相萃取法具有有机溶剂用量少、便捷、高效等特点,已经发展成为分离和浓缩样品中痕量物质的一种有效手段。本文使用 C₁₈、PC/NH₂ 固相萃取柱对韭菜中的甲拌磷和甲拌磷砒进行分离、净化、浓缩,用 DB-1701 和 HP-5 毛细管柱气相色谱进行定性分析,用任一柱进行定量分析,以满足工作需要。

1 材料与方 法

1.1 仪器和试剂

Agilent 6890N 气相色谱仪(带 FPD 检测器)、Chem32 工作站,自动进样器(Agilent 7683B)、旋转蒸发器、高速可调均浆机、固相萃取装置(SUPELCO)、台式低速大容量离心机等。

甲拌磷(100 μg/ml 农业部环境保护监测研究院)和甲拌磷砒(纯度 > 99%,中国农药质量检测中心),乙腈、甲苯和正己烷(均为色谱纯),氯化钠(优级纯),无水硫酸钠(分析纯,用前 650 °C 灼烧 4 h),C₁₈固相萃取柱(2 000 mg/12 ml, Agela),PC/NH₂固相萃取柱(1 000 mg/6 ml, Agela)。

1.2 方法

1.2.1 样品前处理

称取 20 g 已切碎的韭菜样品于 100 ml 离心管中,加入 40 ml 乙腈,15 000 r/min 均浆 1 min,加 5 g 氯化钠,再均浆 1 min,3 000 r/min 离心 5 min,取上清液 20 ml(相当于 10 g 样品)待净化。

将 C₁₈固相萃取柱放在固相萃取架上,先用 10 ml 乙腈预洗柱,下接 100 ml 鸡心蒸发瓶,移入上述提取液 20 ml 过柱,并用 15 ml 乙腈洗涤 C₁₈固相萃取柱,收集提取液与洗涤液在 40 °C 水浴旋转蒸发浓缩至约 1 ml。另将 PC/NH₂固相萃取柱放在固相萃取架上,在柱上加约 2 cm 无水硫酸钠,先用 5 ml 乙腈/甲苯(3:1)预洗柱,下接 100 ml 鸡心蒸发瓶,当液面到达硫酸钠的顶部时,迅速将经 C₁₈柱处理的浓缩液移入柱中,再用 2 ml 乙腈/甲苯(3:1)洗涤样液瓶 3 次,洗液过柱,用 25 ml 乙腈/甲苯(3:1)洗涤 PC/NH₂固相萃取柱,收集所有流出液在 40 °C 水浴旋转蒸发浓缩至约 0.5 ml。每次加入 5 ml 正己烷在 40 °C 水浴旋转蒸发进行溶剂交换 2 次,正己烷定容至 1 ml。

1.2.2 仪器条件

色谱柱 DB-1701 和 HP-5 (30 m × 0.32 mm × 0.25 μm)。

进样口温度 220 °C。检测器温度 280 °C。柱箱升温程序:50 °C 保持 1 min;20 °C/min 升至 160 °C,保持 1 min;10 °C/min 升至 200 °C,保持 3 min;25 °C/min 升至 240 °C,保持 18 min。载气氮气

1.5 ml/min,恒流模式,氢气 4 ml/min,空气 70 ml/min。

1.2.3 定性试验

分别使用 DB-1701 和 HP-5 毛细管色谱柱对样品进行分离,根据目标物在两种色谱柱的保留时间与标准在两柱的保留时间进行比较定性。

1.2.4 标准曲线的绘制

分别将 100 mg/L 标准液用正己烷逐级稀释,配制成质量浓度为 0.01、0.05、0.10、0.50、1.00、5.00 mg/L 的系列标准液。上述色谱条件下进行测定,以质量浓度为横坐标,峰面积为纵坐标,作图得甲拌磷和甲拌磷砒的标准曲线。

1.2.5 回收率试验

在空白韭菜样品中分别添加甲拌磷和甲拌磷砒标准混合溶液,使样品中甲拌磷和甲拌磷砒分别为 0.03、0.30、0.90 和 3.00 mg/kg,每个浓度重复 6 次,按上述方法进行提取、净化,气相色谱法测定其含量,计算回收率。

2 结果与分析

2.1 色谱条件的选择

由于甲拌磷和甲拌磷砒极性相近,需采用合适的程序升温才能较好地分离甲拌磷和甲拌磷砒。若初始温度太高或太低,甲拌磷出峰时间太短或太长,都不利于分离。本方法采用的升温程序很好地实现了甲拌磷和甲拌磷砒的分离,且干扰峰较小。图 1A 为甲拌磷和甲拌磷砒混合物在 DB-1701 毛细管柱上的色谱图,甲拌磷的保留时间为 11.35 min,甲拌磷砒的保留时间为 18.24 min。此外,为了排除其他物质可能存在的干扰,同时使用 HP-5 柱对样品进行分离。图 1B 为甲拌磷和甲拌磷砒混合物在 HP-5 毛细管柱上的色谱图,甲拌磷的保留时间为 8.78 min,甲拌磷砒的保留时间为 14.12 min。根据相对保留时间确定了上述两峰的确是甲拌磷和甲拌磷砒,排除了其他物质干扰的可能性。

2.2 标准曲线的绘制

甲拌磷和甲拌磷砒的标准曲线均达极显著相关,见表 1。

表 1 甲拌磷和甲拌磷砒的线性方程

Table 1 Linear equation of phorate and phorate sulfone			
组分	线性范围(mg/L)	线性方程	相关系数
甲拌磷	0.01 ~ 5.00	$y = 3 \times 10^6 x + 74584$	0.9993
甲拌磷砒	0.01 ~ 5.00	$y = 2 \times 10^6 x + 23189$	0.9991

2.3 精密度实验

甲拌磷和甲拌磷砒标准溶液分别为 0.03、0.30、0.90 和 3.00 mg/kg,每次进样量为 1 μl,重复 6 次。精密度测定结果见表 2,甲拌磷的变异系数在

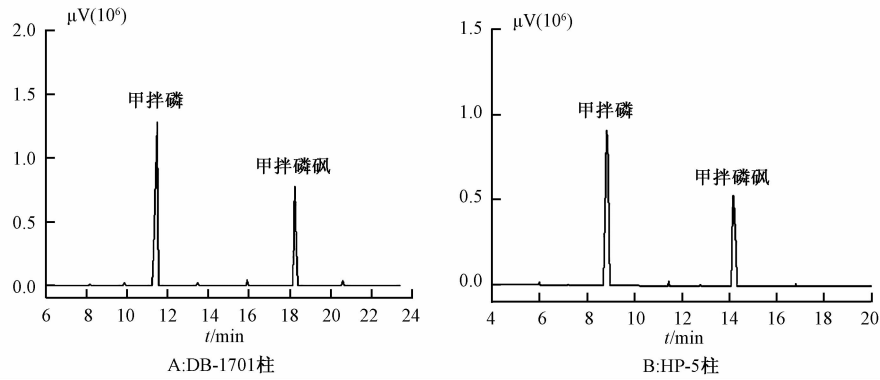


图 1 甲拌磷和甲拌磷砒在 DB-1701 柱和 HP-5 柱中的混标色谱图

Figure 1 Chromatogram of phorate and phorate sulfone in DB-1701 and HP-5 columns

表 2 精密度测定结果

Table 2 Results of precision measurement

组分	浓度 (mg/kg)	峰面积 (10 ⁶)						标准偏差	变异系数 (%)
		1	2	3	4	5	6		
甲拌磷	0.03	0.154	0.163	0.169	0.170	0.170	0.159	0.00668	4.07
	0.30	0.950	0.984	0.987	0.968	0.931	1.02	0.0311	3.20
	0.90	2.68	2.91	2.74	2.79	2.81	2.83	0.0787	2.82
	3.00	9.25	9.44	8.98	8.86	9.12	8.92	0.220	2.42
甲拌磷砒	0.03	0.0839	0.0863	0.0758	0.0757	0.0879	0.0877	0.00571	6.89
	0.30	0.645	0.634	0.649	0.638	0.587	0.591	0.0276	4.43
	0.90	1.73	1.88	1.82	1.75	1.79	1.89	0.0660	3.65
	3.00	6.19	6.08	6.12	5.71	6.43	6.09	0.232	3.81

2.42% ~ 4.07% 之间,甲拌磷砒的变异系数在 3.65% ~ 6.89% 之间,可满足农药残留试验的要求。

2.4 回收率实验

其回收率结果见表 3。甲拌磷的平均回收率在

86.7% ~ 93.2% 之间,变异系数在 2.46% ~ 4.76% 之间;甲拌磷砒的平均回收率在 85.9% ~ 92.5% 之间,变异系数在 2.82% ~ 4.31% 之间。

表 3 回收率测定结果

Table 3 Recoveries of standard addition

组分	浓度 (mg/kg)	回收率 (%)						平均回收率 (%)	标准偏差	变异系数 (%)
		1	2	3	4	5	6			
甲拌磷	0.03	96.3	87.2	94.9	91.8	94.5	85.7	93.2	4.37	4.76
	0.30	88.2	92.8	95.2	90.4	86.9	85.1	87.6	3.78	4.21
	0.90	87.6	84.2	88.3	83.9	88.9	87.3	86.7	2.13	2.46
	3.00	91.0	94.4	93.8	87.0	92.6	92.2	91.8	2.65	2.89
甲拌磷砒	0.03	92.0	86.3	93.3	88.3	84.2	91.5	87.6	3.58	4.01
	0.30	90.6	89.4	84.3	92.9	93.3	85.0	90.1	3.85	4.31
	0.90	95.8	94.5	90.8	87.5	91.6	94.9	92.5	3.14	3.40
	3.00	86.8	88.2	83.6	88.8	83.1	84.6	85.9	2.42	2.82

2.5 检出限

由实验结果可以得出,本方法对韭菜中甲拌磷和甲拌磷砒的检出限均为 0.01 mg/kg,仪器的检出限均为 0.01 ng,可用于检测韭菜中痕量的甲拌磷和甲拌磷砒。

性,确保检测结果准确,该方法检出限为 0.01 mg/kg,仪器检出限为 0.01 ng,变异系数 < 5%。实验结果证明,该法具有操作简便、分离效果好、检测限低、精密度高的特点,是检测韭菜中残留甲拌磷和甲拌磷砒的一种可靠方法。

3 结论

本文研究了固相萃取-毛细管气相色谱测定韭菜中的甲拌磷和甲拌磷砒的方法,利用双柱进行定

参考文献

[1] 陈锡文,邓楠. 中国食品安全战略研究[M]. 北京:化学工业出版社,2004:1-30.

- [2] PAUL C J, SIMO O P, LAU C C. Phorate and terbufos adsorption onto four tropical soils [J]. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, 2004, 240: 55-61.
- [3] SINGH G, SINGH Z. Persistence and movement of phorate at high concentrations in soil [J]. Ecotoxicol Environ Safety, 1984, 8 (6): 540-550.
- [4] 顾宗英. 急性甲拌磷中毒的急救护理体会 [J]. 华北煤炭医学院学报, 2009, 11 (5): 705-706.
- [5] 余革中, 戴荣彩, 贺敏, 等. 气相色谱测定土壤中甲拌磷及其代谢物甲拌磷砒 [J]. 湖南农业大学学报: 自然科学版, 2008, 34 (6): 732-734.
- [6] HEBERT V R, GEDDES J D, MENDOSA J. Gas-phase photolysis of phorate, a phosphorothioate insecticide [J]. Chemosphere, 1998, 36 (9): 2057-2066.
- [7] CHANDRA DAS A, CHAKRAVARTY A, Sukul P. Influence and persistence of phorate and carbofuran insecticides on microorganisms in rice field [J]. Chemosphere, 2003, 53: 1033-1037.
- [8] KU Y, LIN H S. Decomposition of phorate in aqueous solution by photolytic ozonation [J]. Water Res, 2002, 36: 4155-4159.
- [9] 戴荣彩, 陈莉, 夏福利, 等. 混剂中甲拌磷在大豆和土壤中的残留动态 [J]. 农药科学与管理, 2005, 26 (7): 7-9.
- [10] 李文龙, 单宝丽, 依桂华, 等. 毛细柱气相色谱法快速测定黄瓜中六种有机磷农药残留 [J]. 黑龙江八一农垦大学学报, 2009, 21 (4): 42-44.
- [11] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局, 中国国家标准化管理委员会. GB/T 19648—2006 水果和蔬菜中 500 种农药及相关化学品残留量的测定气相色谱-质谱法 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2006.

实验技术与方法

高效液相色谱-串联质谱法测定鱼肉中8种喹诺酮类药物的残留量

李丽莉, 罗轶, 何颂华, 黄莉莉

(广西壮族自治区食品药品检验所, 广西南宁 530021)

摘要:目的 建立鱼肉中恩诺沙星、丹诺沙星、环丙沙星、诺氟沙星、培氟沙星、沙拉沙星、双氟沙星、氧氟沙星等8种喹诺酮类药物残留量的高效液相色谱-串联质谱检测方法。方法 以氘代试剂为内标, 样品经酸性乙腈提取后, 用正己烷脱脂, 旋转蒸发浓缩, 采用 LC-MS/MS 多反应监测 (MRM) 正离子模式测定。结果 8种喹诺酮的水平为 1.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 和 3.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 时回收率为 88.4% ~ 114.9%, 检出限 ($S/N=3$) 为 0.03 ~ 0.1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。结论 该方法简便快捷, 精密度好, 准确度高, 可满足鱼肉中多种喹诺酮类药物残留的定性、定量检测要求。

关键词: 高效液相色谱-串联质谱法; 氘代试剂; 喹诺酮; 鱼肉; 兽药残留

中图分类号: S816.17 文献标识码: A 文章编号: 1004-8456(2012)01-0037-04

Simultaneous determination of 8 quinolone residues in fish meat by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry

Li Lili, Luo Yi, He Songhua, Huang Lili

(Guangxi Institute for Food and Drug Control, Nanning 530021, China)

Abstract: Objective To establish a method for simultaneous determination of 8 quinolone residues (enrofloxacin, danofloxacin, ciprofloxacin, norfloxacin, pelfoxacin, sarafloxacin, difloxacin, ofloxacin) in fish meat by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS). **Methods** Deuterium substituted reagents used as internal standards were added to fish meat samples before extraction. Samples were extracted with acidified acetonitrile, cleaned-up by hexane, and concentrated with a rotary evaporator. The mass spectrometer was operated in the positive ion mode using multiple reaction monitoring (MRM). **Results** The average recoveries of 8 quinolone compounds added at 1.0 and 3.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ were in the range of 88.4% - 114.9%. The detection limits of compounds with the method were ranged from 0.03 to 0.1 $\mu\text{g}/\text{kg}$. **Conclusion** The method is suitable for quantitative and qualitative detection of quinolone residues in fish samples, with advantages of quick, simple and repeatable.

Key words: LC-MS/MS; deuterium substituted reagents; quinolone; fish; residues of veterinary drugs