

大口径毛细管气相色谱法测定油脂、果蔬中 20 种有机氯农药的残留量

余建新¹, 胡小钟¹, 邵俊杰¹, 孙保国¹, 钱浩明¹, 吴采樱²

(1. 湖北进出口商品检验局, 湖北 武汉 430022; 2. 武汉大学化学学院, 湖北 武汉 430072)

摘要 对水果、蔬菜样品采用混合溶剂提取, 对油脂样品则采用乙腈分配处理, 然后运用柱色谱净化方式, 以 HP-101 大口径弹性石英毛细管柱为分离柱, 以电子捕获检测器检测, 用气相色谱法测定油脂、水果、蔬菜中 20 种有机氯农药的残留量。方法的检测限为 1.0 ng/g ~ 20.0 ng/g, 回收率为 83.2% ~ 106.8%, RSD 为 2.0% ~ 9.5%。

关键词 气相色谱法; 大口径毛细管柱; 有机氯农药残留; 油脂; 水果; 蔬菜

中图分类号: O658; O657.7; X592 文献标识码: B 文章编号: 1000-8713(2000)04-0346-04

1 前言

有机氯类农药急性毒性较小, 但性质稳定, 容易造成残留。目前, 世界各国对油脂、果蔬中有机氯农药残留量都作了严格的限量要求^[1]。国内已建立了油脂、果蔬中六六六、DDT 和其它少数残留有机氯农药的测定方法^[2,3], 但对多种有机氯农药残留量检测的研究甚少。周昱、庄无忌^[4]以 HP-50 + 大口径毛细管柱为分离柱, 以电子捕获检测器(ECD)检测, 采用气相色谱法(GC)测定了水果中 14 种有机氯农药的残留量, 是目前国内能同时检测有机氯农药种类最多的分析方法, 但仍不能满足实际需要。国外研究者多采用填充柱或毛细管柱气相色谱测定法, 其中 Tonetti 等^[5]用 DB-1701 毛细管柱结合 ECD 分析了动物饲料中 15 种有机氯杀虫剂的含量, 但这些方法大多存在前处理操作繁琐的缺点, 有的需要借助较复杂的多维色谱系统^[6], 因此难以推广应用。此外, 填充柱有较大的柱容量, 但分辨率不高; 毛细管柱柱效高而柱容量小, 进样量受到限制。大口径毛细管柱兼有填充柱和毛细管柱的优点, 适合于多残留分析^[7]。

我们对水果、蔬菜样品中 20 种有机氯残留农药采用混合溶剂提取, 对油脂样品采用乙腈分配处理, 然后经柱色谱净化, 以 HP-101 大口径毛细管柱为分离柱, 以 ECD 为检测器, 用 GC 法成功地分离了油脂、水果、蔬菜样品中残留的 20 种有机氯农药, 并对其残留量进行了检测。结果表明, 该方法高效实用, 准确灵敏。

2 实验部分

2.1 主要仪器和试剂

HP6890GC 仪, 配检测器为 ECD; HP 3396 色谱数据处理机; HITACHI CT6D 高速离心机; EYELA 真空旋转蒸发器; 振荡器; MT-51 匀质器。

丙酮、石油醚、无水乙醚均为分析纯, 石油醚需加入少量 NaOH 重蒸。无水硫酸钠经 650 °C 灼烧 4 h, 冷却后, 储于密闭容器中。乙腈为分析纯, 用前以正己烷饱和。氟罗里硅土为 Fluka 进口分装, 60 目 ~ 80 目, 650 °C 灼烧 6 h, 冷却后储于密闭容器内备用, 使用前于 130 °C 下活化 5 h, 贮于干燥器中, 于室温下保存, 仅供 2 d 内使用, 2 d 后需重新活化。

α -六六六、 β -六六六、 γ -六六六、 δ -六六六、六氯苯、 p, p' -DDE、 o, p' -DDT、 p, p' -DDD、 p, p' -DDT、七氯、艾氏剂、环氧七氯、冰片丹、硫丹(I)、狄氏剂、异狄氏剂、PCB52、硫丹硫酸酯、克菌丹、三氯杀螨砜等 20 种有机氯农药标准品由迪马公司提供, 纯度均大于 99.0%, 用石油醚或正己烷配制并稀释成适用浓度的混合标准工作液。

2.2 样品处理

2.2.1 样品的提取 (a) 水果、蔬菜类: 样品置于组织捣碎机中高速捣碎后, 称取该样品 20.00 g 于 250 mL 具塞三角烧瓶中, 加入 100 mL 石油醚-丙酮(体积比为 4:1) 振荡 30 min。用布氏漏斗抽滤, 以每次 20 mL 的石油醚洗涤残渣, 洗涤 2 次, 滤液合并于 500 mL 分液漏斗中。再以每次 50 mL 4% 的硫酸钠水溶液洗涤, 洗涤 2 次, 以除去丙酮。上层石油醚经无水硫酸钠柱脱水收集于 250 mL 鸡心形瓶中, 用 10 mL 石油醚洗涤分液漏斗及无水硫酸钠柱, 在旋转蒸发器上浓缩至约 5 mL。

(b) 油脂类 准确称取 3.00 g 油样至 100 mL 烧杯中 , 加入 20 mL 正己烷溶解油样 , 将油样移至 250 mL 分液漏斗中 , 再用 15 mL 正己烷分数次洗涤烧杯并转至分液漏斗中 , 加 35 mL 经正己烷饱和的乙腈 , 振荡 1 min , 静置分层。将下层液放置于另一 500 mL 分液漏斗中 , 加入 100 mL 4% 的硫酸钠水溶液和 100 mL 正己烷 , 再将 250 mL 分液漏斗中的正己烷层用乙腈 (经正己烷饱和的) 提取 3 次 , 每次用乙腈 25 mL , 将乙腈提取液合并至 500 mL 分液漏斗中 , 轻轻振荡 1 min , 农药则转移至正己烷中 , 静置分层 , 弃去水相。分别用 50 mL 4% 的硫酸钠水溶液洗涤正己烷层两次 , 弃去水相 , 正己烷层经无水硫酸钠柱脱水收集于 250 mL 鸡心形瓶中 , 用 10 mL 正己烷洗涤分液漏斗及无水硫酸钠柱 , 在旋转蒸发器上浓缩至约 5 mL。

2.2.2 样品的净化 在 2 cm i. d. × 25 cm 玻璃色谱柱中的底部加少许玻璃棉 , 再依次加入 1 cm 高无水硫酸钠 , 5 g 氟罗里硅土和 1 cm 高无水硫酸钠。先以 40 mL 无水乙醚-石油醚 (体积比为 15:85) 对油脂样品 , 用无水乙醚-正己烷 (体积比为 15:85) , 下同) 预洗色谱柱 , 弃掉淋出液。把浓缩的样品液移入柱内 , 以每次 5 mL 的石油醚或正己烷洗样液浓缩瓶 , 洗涤 2 次 , 一并移入色谱柱 , 最后以 200 mL 上述无水乙醚-石油醚或无水乙醚-正己烷洗脱 , 收集全部洗脱液 , 于 40 °C 水浴上减压蒸至约 40 mL , 以石油醚或正己烷定容至 50 mL , 供色谱分析。

2.3 色谱条件

色谱柱 : HP-101 30 m × 0.53 mm i. d. × 1.0 μm 弹性石英毛细管柱 ; 载气 : 高纯氮气 ; 线速度 : 100 °C 时 42 cm/s ; 柱前压 : 75 kPa ; 恒压方式 ; 尾吹 N₂ : 60 mL/min ; 进样温度 : 250 °C ; 检测器温度 : 300 °C ; 采用不分流进样方式 , 进样量 1 μL , 进样 0.75 min 后吹扫。柱温升温程序 : 100 °C 下恒温 4 min , 然后以 8 °C/min 的速率程序升温至 240 °C , 继续恒温至样品全部流出 (约 20 min) 。

3 结果与讨论

3.1 净化方法的确定

有机氯农药残留分析的净化方法主要有浓硫酸磺化法、柱色谱法、液-液分配法等。液-液分配法净化效果往往不理想 , 且耗费大量有机溶剂 , 浓硫酸磺化离心净化法会使狄氏剂、异狄氏剂等对酸不稳定的农药分解 , 环氧七氯也会部分进入磺化层造成回收率偏低 , 柱色谱法是一种理想的净化方法 , 只要选择极性合适的混合溶液作为洗脱液 , 就能得到满意

的结果。本文采用无水乙醚-石油醚 (体积比为 15:85) 或无水乙醚-正己烷 (体积比为 15:85) 混合溶液为洗脱液 , 对柑桔、黄瓜、油脂样品的净化效果良好。

3.2 分离结果

在上述色谱条件下 , 测定了试剂空白、牛油样品空白和添加 20 种已知量有机氯农药标准的牛油样品中农药残留量 , 色谱图见图 1。

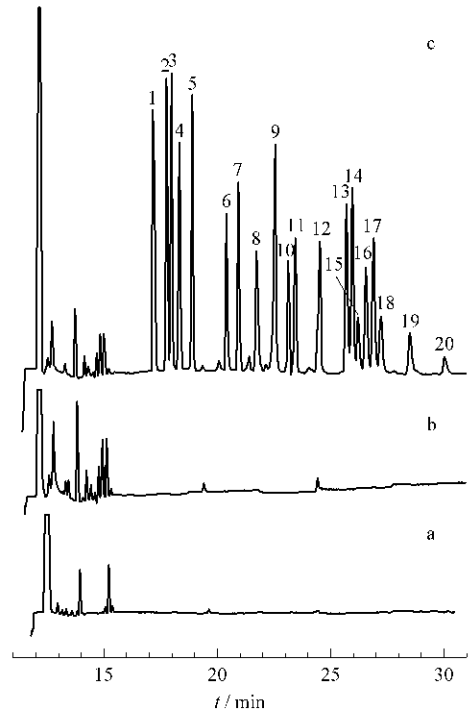


图 1 试剂空白 (a) 牛油样品空白 (b) 和加已知量有机氯农药的牛油样品 (c) 的色谱图

Fig.1 Chromatograms of blank reagent (a) blank sample of beef fat (b) and beef fat sample fortified with organo-chlorinated pesticides (c)

1. α-六六六 2. 六氯苯 3. β-六六六 4. γ-六六六 5. δ-六六六 6. 七氯 7. PCB52 8. 艾氏剂 9. 克菌丹 ; 10. 环氧七氯 ; 11. 冰片丹 ; 12. 硫丹 (I) ; 13. p, p'-DDE ; 14. 狄氏剂 ; 15. 异狄氏剂 ; 16. p, p'-DDD ; 17. o, p'-DDT ; 18. 硫丹硫酸酯 ; 19. p, p'-DDT 20. 三氯杀螨砒。

1. α-HCH ; 2. HCB ; 3. β-HCH ; 4. γ-HCH ; 5. δ-HCH ; 6. heptachlor ; 7. PCB52 ; 8. aldrin ; 9. captan ; 10. heptachlor epoxide ; 11. chlorbicyclen ; 12. endosulfan (I) ; 13. p, p'-DDE ; 14. dieldrin ; 15. endrin ; 16. p, p'-DDD ; 17. o, p'-DDT ; 18. endosulfan sulfate ; 19. p, p'-DDT ; 20. tetradifon.

3.3 淋洗曲线

取 1.0 mL 混合标准工作液 (各种农药质量浓度为 1.0 mg/L ~ 5.0 mg/L) 加到填充氟罗里硅土的色谱柱顶部 , 作洗脱曲线。当某个有机氯农药从柱上洗

脱的回收率达到 95% 时,所消耗的洗脱剂体积即为它的洗脱剂用量。各种有机氯农药的洗脱剂用量如下: $\alpha, \beta, \gamma, \delta$ -六六六、六氯苯、克菌丹、冰片丹为 150 mL, 七氯、环氧七氯、艾氏剂、PCB52 为 130 mL; p, p' -DDE、 p, p' -DDD、 o, p -DDT、 p, p' -DDT 为 180 mL 狄氏剂、异狄氏剂、硫丹(I) 硫丹硫酸酯、三氯杀螨砒为 160 mL。

3.4 定量方法的选择

在分析样品溶液之前,用 10.0 μ L 微量进样器注入 1.0 μ L 适当浓度的标准溶液检查仪器,确证 GC 系统在重复注入被测物质时所产生的响应信号是稳定的。

3.4.1 外标法定量 由于物质的浓度与其色谱响应值成正比,故根据已知某农药浓度及其色谱峰面积可求得实际样品中该农药的准确含量。外标法定量要求根据样品溶液中有机氯农药含量情况,选择

峰值相近的标准溶液,二者要匹配在 $\pm 25\%$ 之内,并且响应值应在仪器检测线性范围内。每注入一次样品溶液,紧接着就要注入一次等体积的标准溶液。

3.4.2 内标法定量 内标物的选择原则是样品中不含有此化合物,而且它与样品中其它组分能够完全分离。本方法可选用环氧七氯作内标物,以此来测定其它 19 种有机氯农药的含量。

3.5 方法的准确度、精密度和检测限

在油脂、果蔬样品中分别添加 50 ng/g, 100 ng/g, 150 ng/g 有机氯农药进行回收试验,每个水平重复 6 次。对柑桔的测定结果见表 1(外标法)。结果表明,本法对 20 种有机氯农药残留有良好的回收率和精密度,能满足多种农药残留分析的要求。

当取样 20.00 g、定容 5 mL、进样 1 μ L 时,本法对 20 种有机氯农药残留量的检测限为 1.0 ng/g ~ 20.0 ng/g ($S/N = 5$)。

表 1 方法的平均回收率、精密度、线性范围和检测限 ($n = 6$)

Table 1 Recovery, precision, linear range and detection limit of the method ($n = 6$)

农药序号 ¹⁾ Pesticide No. ¹⁾	回收率 ²⁾ Recovery ²⁾ (%)			RSD (%)	检测限 Detection limit (ng/g)	线性范围 Linear range(μ g/L)
	A	B	C			
1	94.8	103.4	98.1	3.4	1.0	2.0 ~ 500
2	85.9	93.3	101.6	5.6	1.0	2.0 ~ 500
3	88.2	105.1	88.2	3.9	1.0	2.0 ~ 500
4	96.3	103.1	97.7	6.5	1.0	2.0 ~ 500
5	89.1	98.9	104.5	7.6	1.0	2.0 ~ 500
6	98.0	98.0	95.3	5.8	1.0	2.0 ~ 500
7	103.4	93.8	105.0	5.2	4.0	8 ~ 1 500
8	104.6	96.3	89.6	4.4	5.0	10 ~ 2 500
9	84.6	90.3	97.6	5.2	10.0	20 ~ 3 000
10	98.5	96.5	91.6	4.5	2.0	4 ~ 1 000
11	98.8	103.8	92.4	7.0	10.0	20 ~ 3 000
12	83.2	98.1	100.8	9.3	10.0	20 ~ 3 000
13	90.7	89.8	94.6	2.0	10.0	20 ~ 3 000
14	96.5	105.7	106.8	9.5	10.0	20 ~ 3 000
15	92.0	99.0	103.1	7.1	10.0	20 ~ 3 000
16	85.9	89.5	105.7	3.0	10.0	20 ~ 3 000
17	87.3	90.5	91.8	7.4	10.0	20 ~ 3 000
18	99.1	90.8	87.4	4.0	20.0	40 ~ 3 200
19	86.8	86.9	100.3	4.8	10.0	20 ~ 3 000
20	105.4	89.0	85.8	3.2	20.0	40 ~ 3 200

1) 农药序号与图 1 的峰号相同(for pesticide No. , same as in Fig.1);

2) 添加量(Added): A 50 ng/g, B 100 ng/g, C 150 ng/g。

3.6 样品的测定

用本法测定了柑桔、黄瓜、西红柿、牛油等多种

水果、蔬菜、油脂样品中有机氯农药残留量,并与标准方法²⁾比较,发现检测结果一致,而且用此法可以

检出标准方法无法检出的项目(见表 2, 外标法)。因此, 本法是同时测定多种有机氯农药残留量的更为理想的方法。

表 2 样品的检测结果*

Table 2 The results of sample determination* ng/g

农药序号 ¹⁾ Pesticide No. ¹⁾	本法 This method		文献法 ^[2] Ref. method ^[2]	
	柑桔 orange	西红柿 tomato	柑桔 orange	西红柿 tomato
1, 3, 5	ND	ND	ND	ND
2	ND	52.3	—	—
4	33.8	20.5	34.5	23.1
6	ND	ND	—	—
7	128.4	90	—	—
8	59.3	ND	—	—
9	ND	ND	—	—
10	ND	ND	—	—
11	ND	ND	—	—
12	49.8	67.7	—	—
13	94.2	135.3	91.9	133.8
14, 15	ND	ND	—	—
16	ND	ND	ND	ND
17	65.2	ND	59.8	ND
18	87.0	ND	—	—
19	ND	ND	ND	ND
20	ND	ND	—	—

* ND: 未检出(not detected); —: 不能测定(can't be detected)

1) 农药序号与图 1 的峰号相同(for pesticide No. same as in Fig. 1)

参 考 文 献

1 ZHUANG Wu-ji(庄无忌). The comprehensive compilation of

national maximum residue limits for pesticides, ve-terinary drugs in foodstuffs and feedstuffs in the world(各国食品和饲料中农药兽药残留限量大全). Beijing :China Foreign Economy and Trade Press(北京 :中国对外经济贸易出版社),1995. 576-637

2 Institute of Health , China Preventive Medical Center(中国预防医学中心卫生研究所). GB-5009. 19-85 Method for the determination of 666, DDT residues in food(食品中六六六、滴滴涕残留量的测定方法). Beijing :China Standard Press (北京 :中国标准出版社),1990

3 PENG Yun-xia ,LIU Min ,DING Rong , et al(彭云霞 ,刘敏 ,丁容 ,等). SN 0497-95 Method for the determination of the multipte residues of organochlorine pesticides in tea for export(出口茶叶中多种有机氯农药残留量检验方法). Beijing :China Standard Press(北京 :中国标准出版社), 1996

4 ZHOU Yu ,ZHUANG Wu-ji(周昱 ,庄无忌). Journal of Instrumental Analysis(分析测试学报),1994 ,13(1) 58-61

5 Torreti L ,Simonella A ,Falgiani A , et al. J HRC & CC ,1987 , 10 510-514

6 Lopez-Avila V ,Benedicto J ,Baldin E , et al. J HRC ,1992 , 15 319-324

7 LÜ Zu-fang ,ZHAO Guo-hong(吕祖芳 ,赵国宏). Chinese Journal of Chromatography(色谱),1995 ,13(5) 346-350

Determination of Residues of 20 Kinds of Organochlorinated Pesticides in Oils , Fruits and Vegetables by Wide-Bore Capillary Gas Chromatographic Column

YU Jian-xin¹ ,HU Xiao-zhong¹ ,SHAO Jun-jie¹ ,SUN Bao-guo¹ ,QIAN Hao-ming¹ ,WU Cai-ying²

(1. Hubei Import & Export Commodity Inspection Bureau ,Wuhan 430022 , China ;

2. Chemistry College ,Wuhan University ,Wuhan 430072 , China)

Abstract :A rapid and high performance gas chromatographic method for the determination of 20 organochlorinated pesticides in oils ,fruits and vegetables has been developed. The samples of fruits and vegetables were extracted with petroleum ether-acetone ,while those of oils were extracted with acetonitrile-hexane. The extract was purified by Florisil column with ethyl ether-hexane(15 : 85 ,V/V) or ethyl ether-petroleum ether(15 : 85 ,V/V) as eluent . Chromatographic analysis was performed on wide-bore capillary column with ECD detector. Satisfactory separation and detection of these organochlorinated pesticides are presented with the proposed method. The detection limits of this method were 1.0 ng/g-20.0 ng/g (S/N = 5) , the recoveries 83.2%-106.8% and the relative standard deviations 2.0%-9.5% .

Key words :gas chromatography ;wide-bore capillary column ;organochlorinated pesticide residue ;oil ;fruit ;vegetable