

凝胶渗透色谱-气相色谱同时测定糙米中拟除虫菊酯、 有机氯农药和多氯联苯的残留量

李 樱^{1,2}, 储晓刚², 仲维科², 李淑娟², 何友昭¹

(1. 中国科学技术大学化学系, 安徽 合肥 230026; 2. 中国进出口检验技术研究所食品检验研究中心, 北京 100025)

摘要: 基于凝胶渗透色谱(GPC)对脂类和色素的优良分离能力, 系统研究了其对有机氯农药、拟除虫菊酯农药、多氯联苯和糙米基体的分离行为。介绍了一种可同时测定糙米中35种拟除虫菊酯、有机氯农药和多氯联苯的方法。样品用乙酸乙酯提取, 凝胶渗透色谱净化, 气相色谱-电子捕获检测法(GC-ECD)检测, 外标法定量。在低、中、高浓度3个添加水平上的回收率分别为70.1%~107.4%, 70.3%~109.9%和70.8%~109.5%, 相对标准偏差(RSD)为2.3%~13.3%; 有机氯农药和多氯联苯的检出限为0.07 μg/kg, 拟除虫菊酯的检出限为0.44 μg/kg。

关键词: 气相色谱; 凝胶渗透色谱; 拟除虫菊酯; 有机氯农药; 多氯联苯; 糙米

中图分类号: O658 文献标识码: A 文章编号: 1000-8713(2004)05-0551-04

Simultaneous Determination of the Residues of Pyrethroids , Organochlorines and Polychlorinated Biphenyl Congeners in Unpolished Rice by Gas Chromatography with Gel Permeation Chromatography Purification

LI Ying^{1,2}, CHU Xiaogang², ZHONG Weike², LI Shujuan², HE Youzhao¹

(1. Department of Chemistry, University of Science and Technology of China, Hefei 230026, China; 2. Food Inspection Center, China Import and Export Commodity Inspection Technology Institute, Beijing 100025, China)

Abstract: The separation behaviors of organochlorine pesticides, pyrethroid pesticides, polychlorinated biphenyl congeners (PCBs) and unpolished rice matrixes were systematically investigated with gel permeation chromatography (GPC) because of its outstanding capability in removing lipid and pigments from sample solutions. A separation method was proposed for the quantitative determination of 35 pesticides and PCBs in unpolished rice by GPC and gas chromatography simultaneously. Samples were extracted with ethyl acetate, purified by GPC, and then determined by gas chromatography and electron capture detection (GC-ECD). With external standard method, the recoveries of 3 standard addition levels of low, medium, high concentrations were 70.1% - 107.4%, 70.3% - 109.9% and 70.8% - 109.5%, respectively with relative standard deviations from 2.3% to 13.3%. The detection limits were 0.07 μg/kg for organochlorines and PCBs, and 0.44 μg/kg for pyrethroids.

Key words: gas chromatography; gel permeation chromatography; pyrethroids; organochlorines; polychlorinated biphenyls; unpolished rice

近10年来,农药残留检测技术得到长足发展^[1-3],但多偏重于某一类农药的多残留分析^[4-7],样品前处理和净化方法费时费力^[8]。为了适应国家进出口检验和食品安全检测的需要,本文以糙米作研究对象,应用具有发展潜力的凝胶渗透色谱法(GPC)净化样品,采用气相色谱(GC)分离。方法

简单快捷,自动化程度高,可用于谷物和饲料等分析物中多类农药和有害物残留的同时测定。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

Shimadzu GC-17A 气相色谱仪,配备电子捕获

检测器(ECD)、AOC-17 自动进样器和 CLASS-GC10 数据处理软件。Agilent HP6890 气相色谱仪, 配备火焰离子化检测器(FID)。GPC 装置: 配备 Environed GPC 净化预柱 19 mm i. d. × 150 mm, 净化柱 19 mm i. d. × 300 mm, 两个 2.4 mL 定量环, Waters 510 高效液相色谱泵及 486 紫外吸收检测器, 自动馏分收集器, Millennium 数据处理软件。凝胶柱填充相为 Bio-Beads SX3, 200 ~ 400 目。OMNI GLH-2037 均质机(日本 OMNI 国际公司), HITACHI himac CT6D 离心机(日本), RC3C 型冷冻离心机(美国 Sorvall 仪器公司), SIBATA R-134 旋转蒸发器(日本柴田)和 SK-M 10R 型小型粉碎机(日本协力理工株式会社)等。

正己烷、二氯甲烷(西班牙 Scharlau 公司), 环己烷(美国 Tedia 公司)和乙酸乙酯(美国 Dima 公司)均为色谱纯。无水硫酸钠(分析纯, 北京化工厂)于 650 °C 下烘 4 h 备用。六氯苯、 α -六六六、 β -六六六、 γ -六六六、 δ -六六六、五氯硝基苯、七氯、九氯、艾氏剂、异艾氏剂、 α -硫丹、 β -硫丹、三氯杀螨砒、2,4'-dichlorodiphenyldichloroethane (DDD), 2,4'-dichlorodiphenyldichloroethylene (DDE), 4,4'-DDD、溴杀烯、狄氏剂、异狄氏剂、胺菊酯、氯菊酯、苯氧菊酯标准品购自美国 Supelco 公司, 用正己烷(加丙酮助溶)配成 500 mg/L 储备液。13 种 Aroclor 系列多氯联苯(PCBs)标准品(PCB 28, 52, 70, 87, 128, 138, 141, 153, 180, 185, 187, 194, 208)购自美国 Chemi Service 公司, 用正己烷分别配成 100 mg/L 的单标储备液。再分别移取一定量的单标储备液于 25 mL 容量瓶中, 用正己烷定容, 配成混合标准溶液。

1.2 GPC 凝胶净化条件

紫外检测波长设定在 254 nm, 流动相为二氯甲烷-环己烷(体积比为 1:1), 流量 5 mL/min, 切割时间点 13.5 min, 收集切割点后的馏分 80 mL。

1.3 GC 条件

GC-ECD: 色谱柱 DB-5MS, 30 m × 0.25 mm i. d. × 0.25 μ m。进样口温度 280 °C, 检测器温度 300 °C。载气为 N₂(纯度 99.999%), 柱流量 1.1 mL/min, 柱头压 94 kPa, 不分流进样。程序升温, 起始温度 70 °C(1 min), 以 25 °C/min 的速率升至 190 °C(6 min), 再以 5 °C/min 的速率升至 220 °C(6 min), 最后以 15 °C/min 的速率升至 270 °C(15 min), 共 42.1 min。进样量 1 μ L。

GC-FID: 色谱柱 DB-1, 30 m × 0.32 mm i. d. × 0.25 μ m。进样口温度 250 °C, 检测器温度 280 °C。氢气流速 40 mL/min, 空气流速 248 mL/min, 补偿

气(N₂)流速 47 mL/min。载气为 N₂, 柱流量 3 mL/min, 柱头压 88 kPa, 不分流进样。升温程序, 起始 60 °C, 先以 20 °C/min 的速率升至 180 °C(6 min), 再以 5 °C/min 的速率升至 270 °C(20 min), 共 47 min。进样量 1 μ L。

1.4 实验步骤

准确称取磨碎并过 40 目筛的糙米样品 5.000 g 于 200 mL 离心管中, 加入 40 mL 乙酸乙酯和 2 g 无水硫酸钠, 均质 3 次, 每次 1 min; 用 10 mL 乙酸乙酯冲洗均质头, 合并冲洗液。以 2 500 r/min 离心 15 min, 收集上清液。在沉淀物中加入 40 mL 乙酸乙酯, 重复上述均质和离心过程。将合并的上清液旋转蒸发(80 r/min, 40 °C)至近干, 氮气吹干。用二氯甲烷-环己烷(体积比为 1:1)转移至 10 mL 离心管, 定容至 6 mL。再以 3 000 r/min 的速率离心 5 min。取上清液 4.8 mL 过 GPC, 收集 13.5 min 后的馏分 80 mL, 旋转蒸发(80 r/min, 40 °C)至近干, 氮气吹干。用正己烷定容至 1 mL。GC-ECD 分离检测。

2 结果与讨论

2.1 净化条件的确定

GPC 用于分离样品中脂类等基体组分。切割时间的选择要充分考虑被渗透排除的基体组分与混合标准组分的分离情况。分别收集糙米样液和混合标准液过 GPC 的馏分 30 min, 每分钟收集一份, 前者用 GC-FID 检测, 后者用 GC-ECD 检测。结果发现 9 ~ 20 min 收集的糙米基体馏分在 FID 上有响应, 第 12 min 收集的馏分响应值达到最高; 混合标准液中氯菊酯出峰最早, 11 ~ 22 min 收集的馏分在 ECD 上有响应, 第 15 min 收集的馏分响应值最高。切割时间的选择还应兼顾氯菊酯的回收率和糙米的净化率。13.5 min 时, 糙米净化率可达 70.7%, 而氯菊酯平均回收率为 73.1%(见图 1)。

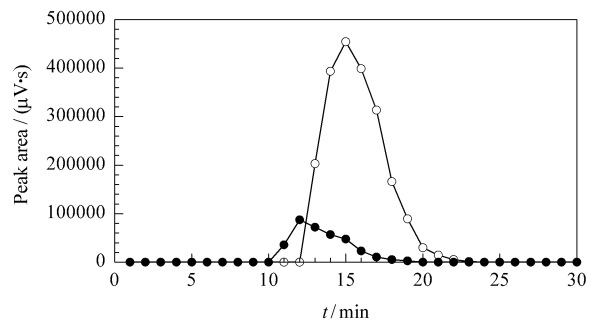


图 1 糙米(●)和氯菊酯(○)的 GPC 各馏分中测得的响应值
Fig.1 Response of unpolished rice (●) and permethrin (○) in fractions of GPC

2.2 色谱条件的选择

进样口和检测器温度、程序升温以及载气流速

的实验表明,所确定的色谱条件可成功地分离 35 个标准组分峰,且峰形良好。图 2 为糙米空白样品的色谱图(经确认,其杂质峰中不含所分析的 35 种分析物),图 3 为添加标准品的糙米样品的色谱图,其中异狄氏剂、胺菊酯和氯菊酯标准品各有两个峰。

2.3 标准工作曲线和方法学评价

配制 5 个不同浓度的混合标准溶液,每个浓度平行测定 3 次,取峰面积平均值,得线性回归方程(见表 1)。加标样品按 3 倍基线-噪声比计算有机氯和多氯联苯的检出限为 0.07 μg/kg;拟除虫菊酯的检出限为 0.44 μg/kg。

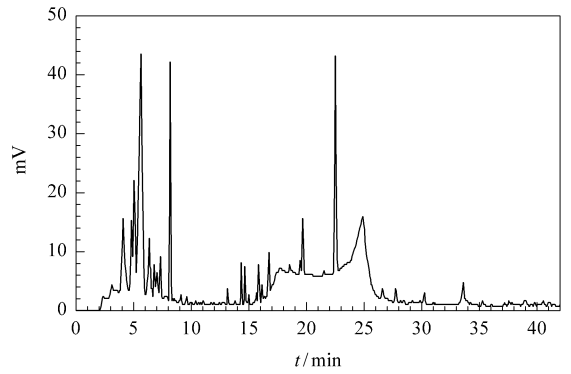


图 2 糙米空白样品的气相色谱图
Fig. 2 GC/ECD chromatogram of unpolished rice

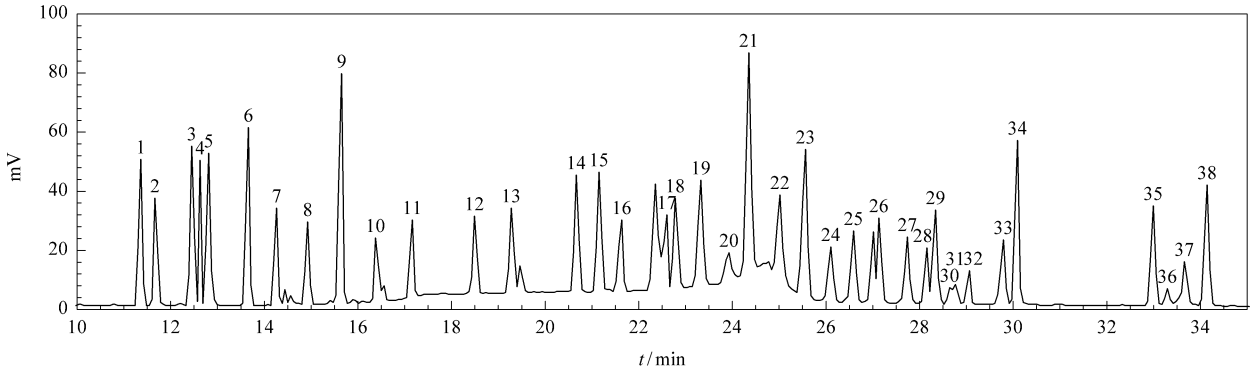


图 3 糙米加标气相色谱图
Fig. 3 GC/ECD chromatogram of 35 pesticides added into unpolished rice

1. α-benzene hexachloride ; 2. hexachlorobenzene ; 3. β-benzene hexachloride ; 4. γ-benzene hexachloride ; 5. pentachlorobenzene ; 6. δ-benzene hexachloride ; 7. bromocyclen ; 8. PCB 28 ; 9. heptachlor ; 10. PCB 52 ; 11. aldrin ; 12. isodrin ; 13. PCB 70 ; 14. 2,4'-DDE ; 15. α-endosulfan ; 16. trans-nonachlor ; 17. PCB 87 ; 18. dieldrin ; 19. 2,4'-DDD ; 20. kersoxim-methyl ; 21. endrin I ; 22. β-endosulfan ; 23. 4,4'-DDD ; 24. PCB 153 ; 25. PCB 141 ; 26. PCB 138 ; 27. PCB 187 ; 28. PCB 128 ; 29. PCB 185 ; 30. endrin II ; 31. tetramethrin I ; 32. tetramethrin II ; 33. PCB 180 ; 34. tetradifon ; 35. PCB 208 ; 36. permethrin I ; 37. permethrin II ; 38. PCB 194.

Standards added/(μg/kg) : 1. 32.0 ; 2. 26.2 ; 3. 93.4 ; 4. 30.4 ; 5. 45.2 ; 6. 49.2 ; 7. 25.4 ; 8. 50.0 ; 9. 69.4 ; 10. 65.2 ; 11. 21.2 ; 12. 30.8 ; 13. 63.4 ; 14. 74.8 ; 15. 53.0 ; 16. 32.0 ; 17. 46.0 ; 18. 41.2 ; 19. 92.2 ; 20. 206 ; 21 + 30. 129 ; 22. 52.6 ; 23. 73.4 ; 24. 53.8 ; 25. 32.0 ; 26. 50.0 ; 27. 40.4 ; 28. 28.8 ; 29. 35.2 ; 31 + 32. 208 ; 33. 34.6 ; 34. 83.2 ; 35. 51.2 ; 36 + 37. 362 ; 38. 58.8.

表 1 部分农药线性关系
Table 1 Linearity of peak area vs pesticide concentration

Pesticide	Linear equation	r ²	Range of linearity/(mg/L)
α-Benzene hexachloride	y = 9.68 × 10 ⁵ x - 1.55 × 10 ⁴	0.999 9	0.016 0 - 1.60
β-Benzene hexachloride	y = 2.16 × 10 ⁵ x - 1.66 × 10 ³	0.999 1	0.046 7 - 4.67
γ-Benzene hexachloride	y = 1.00 × 10 ⁶ x - 1.30 × 10 ⁴	0.999 9	0.015 2 - 1.52
δ-Benzene hexachloride	y = 7.43 × 10 ⁵ x - 1.44 × 10 ⁵	0.997 0	0.024 6 - 2.46
Isodrin	y = 7.88 × 10 ⁵ x + 8.70 × 10 ⁴	0.999 9	0.015 4 - 1.54
Dieldrin	y = 9.55 × 10 ⁵ x + 1.60 × 10 ⁴	0.999 9	0.020 6 - 2.06
2,4'-DDD	y = 4.64 × 10 ⁵ x + 1.06 × 10 ⁴	0.999 6	0.046 1 - 4.61
2,4'-DDE	y = 5.07 × 10 ⁵ x + 2.70 × 10 ⁴	0.998 8	0.037 4 - 3.74
4,4'-DDD	y = 5.13 × 10 ⁵ x - 3.52 × 10 ⁴	0.999 1	0.036 7 - 3.67
Bromocyclen	y = 9.86 × 10 ⁵ x - 701	0.999 8	0.012 7 - 1.27
Permethrin	y = 8.36 × 10 ⁴ x - 2.90 × 10 ⁴	0.999 8	0.181 - 18.1
Kersoxim-methyl	y = 1.98 × 10 ⁵ x + 1.10 × 10 ⁴	0.999 9	0.103 - 10.3
PCB 28	y = 4.06 × 10 ⁵ x + 1.11 × 10 ⁴	0.998 7	0.025 0 - 2.50
PCB 52	y = 2.48 × 10 ⁵ x + 1.91 × 10 ⁴	0.997 3	0.032 6 - 3.26
PCB 70	y = 4.10 × 10 ⁵ x + 1.66 × 10 ⁴	0.999 0	0.031 7 - 3.17
PCB 87	y = 5.03 × 10 ⁵ x + 8.33 × 10 ³	0.999 6	0.023 0 - 2.30
PCB 128	y = 6.66 × 10 ⁵ x + 5.86 × 10 ³	0.999 6	0.014 4 - 1.44
PCB 185	y = 1.00 × 10 ⁶ x + 4.27 × 10 ³	1	0.017 6 - 1.76
PCB 208	y = 9.02 × 10 ⁵ x + 1.77 × 10 ³	1	0.025 6 - 2.56

y : peak area ; x : mass concentration , mg/L.

2.4 回收率及精密度试验

在适量糙米样品中添加高、中、低 3 种浓度(添加水平见表 2)的混合标准储备液,按“ 1.4 ”节所述

实验步骤进行,同时做空白对照。所得到的糙米中农药和有害物残留的加标回收率和相对标准偏差($n = 10$)见表 2。

表 2 回收率及精密度测定结果($n = 10$)
Table 2 Recoveries and precisions ($n = 10$)

Pesticide	Level 1			Level 2			Level 3		
	added/(mg/kg)	recovery/%	RSD/%	added/(mg/kg)	recovery/%	RSD/%	added/(mg/kg)	recovery/%	RSD/%
α -Benzene hexachloride	0.006 4	92.8	6.2	0.032 0	102.3	6.2	0.160	88.1	9.0
β -Benzene hexachloride	0.018 7	90.3	5.5	0.093 4	99.7	5.3	0.468	89.8	8.6
γ -Benzene hexachloride	0.006 06	94.0	6.0	0.030 4	103.5	6.0	0.152	91.5	8.2
δ -Benzene hexachloride	0.009 86	95.8	5.9	0.049 2	106.8	5.4	0.246	98.6	11.5
Isodrin	0.006 14	85.9	6.3	0.030 8	87.3	9.6	0.154	85.8	4.4
Dieldrin	0.008 22	87.0	5.9	0.041 2	93.6	6.9	0.206	73.4	2.3
2,4'-DDD	0.018 4	84.2	5.8	0.092 2	89.5	6.7	0.460	70.8	4.4
2,4'-DDE	0.015 0	89.2	4.9	0.074 8	94.0	7.8	0.374	83.7	4.5
4,4'-DDD	0.014 7	95.4	6.6	0.073 4	109.3	7.7	0.368	98.7	9.2
Bromocyclen	0.005 06	89.9	6.4	0.025 4	98.7	5.5	0.127	78.3	8.2
Permethrin	0.072 4	71.2	6.3	0.362	70.3	7.5	1.81	80.9	12.9
Kersoxim-methyl	0.041 2	70.1	7.1	0.206	70.3	11.4	1.03	74.2	13.3
PCB 28	0.009 88	93.2	6.3	0.050 0	102.9	4.8	0.250	75.6	8.2
PCB 52	0.013 1	85.0	7.7	0.065 2	89.3	6.4	0.326	109.5	5.4
PCB 70	0.012 7	86.3	5.5	0.063 4	84.7	7.8	0.316	71.6	3.9
PCB 87	0.009 22	94.5	5.6	0.046 0	100.5	9.9	0.230	74.2	10.0
PCB 128	0.005 76	83.0	5.7	0.028 8	91.6	6.2	0.144	71.4	8.4
PCB 185	0.007 04	107.4	8.3	0.035 2	109.9	5.3	0.176	89.0	6.9
PCB 208	0.010 2	83.6	6.8	0.050 1	93.6	5.4	0.256	83.6	6.8

2.5 结语

建立了用 GPC 净化,GC-ECD 同时测定糙米中 35 种拟除虫菊酯、有机氯农药和多氯联苯的方法。方法简便省时,3 个添加水平的回收率分别为 70.1% ~ 107.4%,70.3% ~ 109.9% 和 70.8% ~ 109.5%,相对标准偏差范围为 2.3% ~ 13.3%,线性相关系数均大于 0.997。方法对上述分析物的检出限达 0.07 ~ 0.44 $\mu\text{g}/\text{kg}$,符合农药残留检测要求。

参考文献:

[1] Tekel J, Hatrik S. J Chromatogr A, 1996, 754 : 397

[2] Lehotay S J. J Chromatogr A, 1997, 785 : 289
[3] Jover E, Bayona J M. J Chromatogr A, 2002, 950 : 213
[4] Podhorniak L V. Journal of AOAC International, 2001, 84 (3) : 873
[5] Hess P. J Chromatogr A, 1995, 703 : 417
[6] Yang Changzhi, LI Shuqi, Kang Qinghe, Chen Li. Chinese Journal of Chromatography (杨长志, 李淑琪, 康庆贺, 陈丽. 色谱), 2003, 21(5) : 531
[7] Pan Canping, Wang Limin, Kong Xiangyu, Jiang Shuren, Qian Chuanfan. Chinese Journal of Chromatography (潘灿平, 王丽敏, 孔祥雨, 江树人, 钱传范. 色谱), 2002, 20(6) : 565
[8] Li Hongbo, Wang Xuqing. Pesticides(李洪波, 王绪卿. 农药), 1993, 32(2) : 12