

MAE/GC 法测定草莓中有机磷农药的研究

于 艳¹, 孟 辉¹, 杜春霖¹, 焦 阳²

(1. 辽东学院, 辽宁 丹东 118003; 2. 丹东出入境检验检疫局, 辽宁 丹东 118000)

摘要: 建立了微波辅助萃取(MAE)与气相色谱(GC)联用测定草莓中残留有机磷农药的方法。该方法同当前执行的国标方法相比, 有机溶剂用量少, 操作简便, 提取液无须严格净化便可进行GC分析, 大大提高了分析速度。结果表明, 以二氯甲烷为溶剂, 用量为25 mL, 萃取温度50℃, 时间为10 min时, 萃取效果最佳。5种有机磷农药的0.5 mg/kg和1.0 mg/kg加标回收率均在87.99%以上, 相对标准偏差在3.0%~8.8%之间, 能满足当前蔬菜、水果中有机磷残留的检测要求。

关键词: 草莓; 微波辅助萃取; 农药残留; 有机磷农药

中图分类号: S436.63 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-3268(2008)01-0076-04

Analysis of Organophosphorous Pesticide Residue in Strawberry by MAE/GC Method

YU Yan¹, MENG Hui¹, DU Chun-lin¹, JIAO Yang²

(1. Eastern Liaoning University, Dandong 118003, China; 2. Dandong Exit & Entry Inspection and Quarantine Bureau, Dandong 118000, China)

Abstract: The MAE and GC were jointly used to detect the organic phosphorous pesticide residue in strawberry. Compared with the current international techniques, this method was easier to operate, used less solvent and was unneeded to strictly purify the solvent extract, so the analytical speed was greatly enhanced. The recovery rates of five organic phosphorous pesticides were all over 87.99% and the RSD was 3.0%—8.8%, which could meet the detection requirement of organic phosphorous residue in vegetables and fruits.

Key words: Strawberry; Microwave assisted extraction; Pesticide residues; Organic phosphorous pesticides

随着人们生活水平的提高, 食品农药残留问题越来越引起各界的广泛关注。它不仅影响人们的身体健康, 同时成为我国农产品出口的重要障碍。因此, 建立快速、高效、灵敏的多残留农药检测方法成为同行们研究的热点^[1]。

样品前处理一直是农药残留分析中造成试验结果误差的主要环节^[2]。微波辅助萃取(microwave assisted extraction, MAE)是将微波激活与传统的溶剂萃取法相结合的一种新的萃取方法, 已成为提取有效成分的一项新技术^[1, 2]。杨云等^[3]利用MAE技术提取了蔬菜样品中的二嗪磷、对硫磷和水胺硫磷。该方法还被用于大气可吸入物中多环芳

烃(PAHs)^[4]、烟草中致癌物质的分析^[5]等, 但用微波辅助萃取法测定草莓中马拉硫磷(malathion)、敌敌畏(dichlorvos)、毒死蜱(chlorpyrifos)等有机磷农药残留的研究还未见报道。试验采用微波辅助萃取技术, 结合气相色谱(GC)对草莓中残留有机磷农药进行分析。该方法具有有机溶剂用量少, 操作简便, 提取液无须严格净化便可进行GC分析等优点。

1 材料和方法

1.1 药品试剂与设备

乐果(dimethoate)、马拉硫磷(malathion)、敌敌畏(dichlorvos)、毒死蜱(chlorpyrifos)、甲基对硫磷

收稿日期: 2007-10-25

基金项目: 丹东市科学技术计划项目(04112)

作者简介: 于 艳(1962-), 女, 辽宁长海人, 教授, 主要从事有机合成与分析的研究。

(parathion-methyl)、丙酮(100 mg/L 农业部环境保护科研监测所)、二氯甲烷、乙醇; MARS-5 微波消解仪(美国 CEM 公司); 6890 N 气相色谱仪(美国 Agilent 公司), 配有自动进样装置, 火焰光度检测器(P 滤光片); RE-52AA 型旋转蒸发仪(上海亚荣生化仪器厂); 无水硫酸钠(650 ℃灼烧 4 h)贮于密封瓶内备用, 氯化钠(天津化学试剂厂)。以上试剂均为分析纯。N-Evap112 氮吹仪(美国 Organomation Associates, Inc); DS-200 高速组织捣碎机(江苏江阴科研器械厂)。

1.2 试验设计

先选择萃取溶剂, 再采用单因素方法对萃取条件进行优化。固定微波萃取温度、时间, 考察溶剂用量; 固定溶剂用量和萃取时间, 考察萃取温度; 最后固定优化后的溶剂用量和萃取温度, 考察萃取时间。

1.3 样品的提取和净化

1.3.1 微波辅助萃取法 称取 3.000 g 试样于微波萃取内罐中, 加入一定量的混合标准工作液, 静置 10 min, 在最佳微波萃取条件(即 25 mL 二氯甲烷, 微波功率 600 W, 微波压力 1.378×10^6 pa, 温度为 50 ℃)下萃取 10 min。旋转蒸发至 8 mL, 于 40 ℃下用氮吹仪吹至 1.0 mL, 进色谱柱。

1.3.2 捣碎提取法^[6] (1)提取: 称取 50.00 g 草莓置于 300 mL 烧杯中, 加入一定量的混合标准工作液, 静置 10 min 后加入 50 mL 水和 100 mL 丙酮(提取液总体积为 150 mL), 用组织捣碎机提取 1~2 min。匀浆液经铺有两层滤纸和约 10 g Celite545 的

布氏漏斗减压抽滤, 从滤液中分取 100 mL 移至 500 mL 分液漏斗中。(2)净化: 向滤液中加入 10~15 g 氯化钠, 使溶液处于饱和状态猛烈振摇 2~3 min, 静置 10 min, 使丙酮从水相中盐析出来。水相用 50 mL 二氯甲烷振摇 2 min, 再静置分层。将丙酮与二氯甲烷提取液合并, 经装有 20~30 g 无水硫酸钠的玻璃漏斗脱水入 250 mL 圆底烧瓶中, 再以 40 mL 二氯甲烷分数次洗涤容器和无水硫酸钠, 洗涤液也并入烧瓶中, 用旋转蒸发仪浓缩至 2 mL, 浓缩液定量转移至 5~25 mL 容量瓶中, 加二氯甲烷定容至刻度, 进色谱柱。

1.4 气相色谱条件

色谱条件: HP-5 (30 m×0.25 mm×0.32 μm) 石英毛细管柱。进样口温度: 250 ℃; 检测器温度: 250 ℃; 不分流进样; 载气: 高纯 N₂ (99.999%); 流速: 25 mL/min; 空气与氢气流量比 (Air:H₂) = 100:75 (mL/min); 初始温度: 120 ℃; 然后以 10 ℃/min 的速度升温至 220 ℃保持 10 min。

2 结果与分析

2.1 MAE 条件的优化

2.1.1 萃取溶剂的选择 本试验选择了二氯甲烷、乙醇-二氯甲烷(1:1, V/V)两种常用的萃取体系, 固定其他 MAE 条件(萃取时间 10 min, 溶剂体积 25 mL, 萃取温度 50 ℃), 比较它们对样品中 5 种有机磷农药(OPPs)的 MAE 回收率。溶剂体系萃取回收率见表 1。

表 1 两种溶剂 MAE 萃取草莓中有机磷农药的回收率 (%)

溶剂	敌敌畏	乐果	甲基对硫磷	毒死蜱	马拉硫磷
二氯甲烷	97.85	98.50	95.72	91.35	87.67
乙醇-二氯甲烷	80.23	81.32	63.10	66.00	62.31

由表 1 可见, 萃取溶剂的选择与待测农药的性质紧密相关。采用二氯甲烷作萃取溶剂时, 萃取效果要远远好于乙醇-二氯甲烷萃取体系。并且二氯甲烷沸点低、极性小, 便于后续的浓缩步骤, 因此本试验选择二氯甲烷为萃取溶剂。

2.1.2 溶剂用量的选择 由图 1 可见, 溶剂用量低于 10 mL 时萃取回收率偏低, 当溶剂用量超过 15 mL 以后, 萃取回收率都在要求范围内。25 mL 和 30 mL 时对 5 种有机磷农药萃取回收率最好, 考虑节省溶剂用量, 选用 25 mL 为本试验的溶剂用量。

2.1.3 萃取温度的选择 由图 2 可见, 萃取温度为 30 ℃时, 回收率较低, 50 ℃时萃取回收率最高, 之后

随着萃取温度的升高, 萃取回收率越来越低, 虽然 50 ℃回收率偏高些, 但在要求范围内, 因此, 选择 50 ℃为最佳萃取温度。

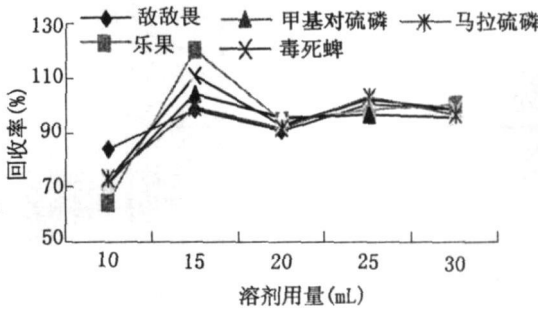


图 1 溶剂用量对回收率的影响

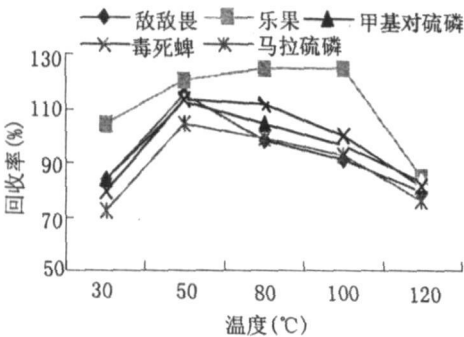


图 2 萃取温度对回收率的影响

2.1.4 萃取时间的选择 由图 3 可见, 萃取时间在 5min 以前, 萃取回收率偏低, 当萃取时间达到 10min 时, 萃取回收率最高, 随着萃取时间的增加, 甲基对硫磷、毒死蜱和马拉硫磷萃取回收率逐渐降低, 所以选择

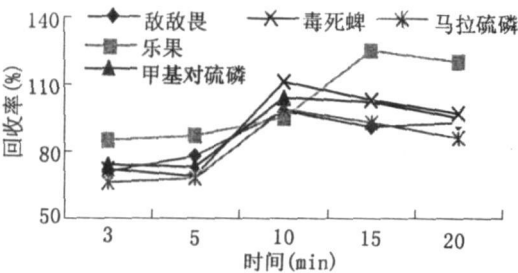
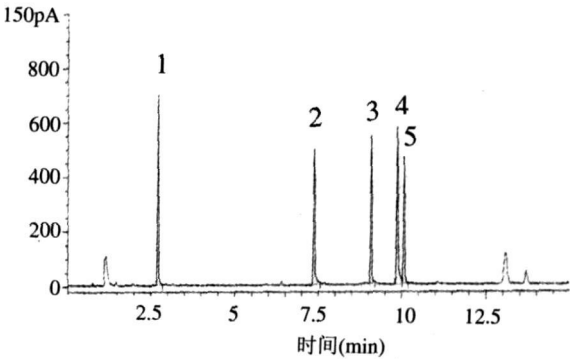


图 3 萃取时间对回收率的影响

萃取时间为 10 min。
综上所述, 萃取 5 种有机磷农药的最佳条件是: 以二氯甲烷为溶剂, 用量 25 mL, 萃取温度 50 ℃, 萃取时间 10 min。
2.2 色谱条件的选择
在最佳色谱条件下, 将分离净化后的样品进入色谱柱, 其分离色谱见图 4。



1. 敌敌畏; 2. 乐果; 3. 甲基对硫磷; 4. 毒死蜱; 5. 马拉硫磷

图 4 5 种有机磷农药的气相色谱

2.3 MAE 与捣碎提取回收率的比较
由表 2 可以看出, MAE 可以获得与捣碎提取同样好的提取效果, 且 MAE 的回收率还略高于捣碎提取的回收率。

表 2 MAE 与捣碎提取回收率的比较 (%)

添加量 (mg/kg)	捣碎萃取法回收率					MAE 法回收率				
	敌敌畏	乐果	甲基对硫磷	毒死蜱	马拉硫磷	敌敌畏	乐果	甲基对硫磷	毒死蜱	马拉硫磷
0.5	76.76	87.57	95.48	90.64	88.47	96.33	98.47	101.20	109.30	94.21
1.0	85.96	85.33	94.12	95.69	95.78	95.00	99.01	87.99	97.25	98.55

2.4 标准曲线及最低检出限
从配制好的有机磷农药混合标准溶液中 (10mg/L), 准确移取 0.05, 0.10, 0.15, 0.20, 0.40 mL 溶液, 用二氯甲烷定容至 1 mL, 采用 1.4 的操作条件进行 GC—FPD 测定。由表 3 可知, 各农

药的相关系数 (r) ≥ 0.9975 , 最低检出限在 0.0015 ~ 0.0072 mg/kg, 相对标准偏差 (RSD) 在 3.0% ~ 8.8%。由所得到的回收率、精确度及最低检出限来看, 以上基于 MAE 而建立的方法完全可满足有机磷农药残留分析的要求。

表 3 5 种农药的标准曲线方程和最低检出限

农药	标准曲线方程	相关系数	相对标准偏差 (RSD, %)	最低检出限 (mg/kg)
敌敌畏	$Y = 332.67x + 51.319$	0.9989	4.2	0.0015
乐果	$Y = 255.97x + 50.107$	0.9978	3.8	0.0072
甲基对硫磷	$Y = 293.33x + 42.493$	0.9985	3.0	0.0036
毒死蜱	$Y = 245.27x + 19.134$	0.9978	3.9	0.0036
马拉硫磷	$Y = 190.18x + 35.310$	0.9975	8.8	0.0036

3 结论
用 MAE—GC 方法分析草莓中的多种有机磷农药残留, 与已有的捣碎提取 (国标) 方法相比, 有机溶剂用量少, 操作简便, 提取液无须严格净化便可进行 GC 分析, 大大提高了分析速度。结果表明, 以二氯甲烷为溶剂, 溶剂用量 25 mL, 萃取温度 50 ℃, 萃取时间为 10 min 时, 萃取效果最佳。5 种有机磷农药的 0.5 mg/kg 和 1.0 mg/kg 加标回收率均在 87.99% 以上, 最低检出限在 (下转第 83 页)

除剂等起作用^[21]。但至今对盐胁迫下脯氨酸积累的生理意义仍存在较大分歧。本研究结果表明,盐胁迫下黄瓜叶片脯氨酸积累,耐盐性较弱品种(津绿4号)的积累幅度大于较耐盐品种(津研4号);硅处理提高黄瓜的耐盐性,但硅处理却降低盐胁迫下黄瓜叶片脯氨酸的积累量。说明脯氨酸的积累可能只是黄瓜在盐胁迫下受伤害的结果,硅缓解了盐胁迫对黄瓜的伤害可能与硅降低脯氨酸的积累有关。

参考文献:

[1] 陈阳,王贺,张福锁,等.硅盐互作下小獐毛植物体内元素分布及生理特性的研究[J].植物生态学报,2003,27(2):189—195.

[2] Epstein E. The anomaly of silicon in plant biology [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1994, 91(1): 11—17.

[3] Epstein E. Silicon [J]. Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol, 1999, 50: 641—664.

[4] 赵风兰,文春波,侯怀恩,等.硅钾肥在番茄上的应用效果[J].河南农业科学,2007(8):95—97.

[5] 梁永超,丁瑞兴.硅对大麦根系中离子的微域分布的影响及其与大麦耐盐性的关系[J].中国科学(C 辑),2002,32(2):113—121.

[6] Ahmad R, Zaheer S H, Ismail S. Role of silicon in salt tolerance of wheat (*Triticum aestivum* L.) [J]. Plant Sci, 1992, 85: 43—50.

[7] Matoh T, Kairusmee P, Takahashi E. Salt-induced damage to rice plants and alleviation effect of silicate [J]. Soil Sci Plant Nutr, 1986, 32: 295—304.

[8] Liang Y C, Shen Q R, Shen Z G, *et al.* Effects of silicon on salinity tolerance of two barely cultivars[J]. J Plant Nutr, 1996, 19: 173—183.

[9] Liang Y C. Effects of silicon on enzyme activity and sodium, potassium and calcium concentration in barely under salt stress[J]. Plant and Soil, 1999, 29: 217—224.

[10] Liang Y C, Chen Q, Liu Q, *et al.* Exogenous silicon (Si) increases antioxidant enzyme activity and reduces lipid peroxidation in roots of salt-stressed barley

(*Hordeum vulgare* L.) [J]. J Plant Physiol, 2003, 29: 217—224.

[11] Lutts S, Kinet J M, Bouharmont J. NaCl induced senescence in leaves of rice (*Oryza sativa* L.) cultivars differing in salinity resistance [J]. Ann Bot, 1996 (78): 389—398.

[12] Cakmak I, Marschner H. Magnesium deficiency and high light intensity enhance activity of superoxide dismutase, ascorbate peroxidase, and glutathione reductase in bean leaves [J]. Plant physiol, 1992, 98: 1222—1227.

[13] Omran R G. Peroxide levels and the activities of catalase, peroxidase and indoleacetic acid oxidase during and after chilling cucumber seedlings [J]. Plant Physiol, 1980, 65(2): 407—408.

[14] 张志良.植物生理学实验指导手册[M].北京:高等教育出版社,2000.

[15] Bradford M M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding [J]. Anal Biochem, 1976, 72: 248—254.

[16] 束良佐,刘英惠.硅对盐胁迫下玉米幼苗叶片膜脂过氧化和保护系统的影响[J].厦门大学学报(自然科学版),2001,40(6):1295—1300.

[17] 钟平.钾对蔬菜产量和质量的影响[J].蔬菜,1996(2):4—5.

[18] 陈沁,刘友良.谷胱甘肽对盐胁迫大麦叶片活性氧清除系统的保护作用[J].作物学报,2000,26(3):365—372.

[19] 蒋明义,郭绍川.水分亏缺诱导的氧化胁迫和植物的抗氧化作用[J].植物生理学通讯,1996,32(2):144—150.

[20] 冯利波,蒋卫杰,元秀萍,等.植物耐盐性机理及其基因控制技术研究进展[J].农业工程学报,2005(S2):5—9.

[21] Bohnert H J, Jensen R G. Strategies for engineering water stress tolerance in plants [J]. Trends biotech, 1996, 14: 89—95.

(上接第78页) 0.0015~0.0072 mg/kg 之间,相对标准偏差在3.0%~8.8%之间,能满足当前蔬菜、水果中有机磷残留的检测要求。

参考文献:

[1] Ganzler K, Szinai I, Salgo A, *et al.* Sample preparation method for extracting biologically active compounds from different matrices by a microwave technique [J]. J Chromatogr, 1990, 520: 257—262.

[2] Pastor A, Vázquez E, Ciscar R, *et al.* Efficiency of the microwave-assisted extraction of hydrocarbons and

pesticides from sediments [J]. Analytica Chimica Acta, 1997, 344(3): 241—249.

[3] 杨云,张卓,李攻科.微波辅助萃取/气相色谱—质谱联用分析蔬菜中的有机磷农药[J].色谱,2002,20(5):390—393.

[4] 李核,李攻科,陈洪伟,等.微波辅助萃取—气相色谱—质谱法测定大气可吸入颗粒物中痕量多环芳烃[J].分析化学,2002,30(9):1058—1062.

[5] 徐杨,朱建华,恽之瑜.微波辐照同时分离烟草中亚硝胺和氮氧化物[J].分析化学,2002,30(3):286—288.

[6] GB/T 5009.20—2003.食品中有机磷类农药多种残留的测定[S].北京:中国标准出版社,2003.