

• 论 著 •

气相色谱检测水产品中有机氯类农药残留*

宋鑫^{1,2}, 杭学宇², 王芹^{1,2}, 王露², 冯晓青², 徐瑞², 茅力^{1△}

(1. 南京医科大学公共卫生学院, 江苏南京 211166; 2. 淮安市疾病预防控制中心, 江苏淮安 223001)

摘要:目的 建立气相色谱定量测定水产品中 16 种有机氯类混合农药残留的方法。方法 样品由乙腈提取, 以氨基固相萃取柱(Carb/NH₂)净化, 经气相色谱检测分析。结果 16 种化合物在 0.05~1.00 mg/L 内线性关系良好($r > 0.998$), 各有机氯的检出限为 0.04~0.31 μg/kg(S/N=3)。在加标水平为 50、100、200 μg/kg 时, 该方法的回收率为 72.6%~115.2%, 相对标准偏差为 0.6%~7.5%。结论 该研究建立的方法选择性好、灵敏度高, 适用于水产品中有机氯类农药的多残留痕迹测定。

关键词: 气相色谱; 水产品; 有机氯

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2016.06.006

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2016)06-0733-03

Determination of organochlorine pesticide in aquatic products by gas chromatography*

Song Xin^{1,2}, Hang Xueyu², Wang Qin^{1,2}, Wang Lu², Feng Xiaqing², Xu Rui², Mao Li^{1△}

(1. College of Public Health, Nanjing Medical University, Nanjing, Jiangsu 211166, China; 2. Huai'an Center for Disease Control and Prevention, Huai'an, Jiangsu 223001, China)

Abstract: Objective A method for quantitative determination of 16 kinds of organochlorine pesticide (OCPs) in aquatic products by gas chromatography (GC) was established. **Methods** The sample was extracted by acetonitrile, purified by Carb/NH₂, and then determined by GC. **Results** The linear relations of 16 kinds of OCPs were good at 0.05–1.00 mg/L ($r > 0.998$). The limit of detection of OCPs was in the range of 0.04–0.31 μg/kg (S/N=3). When the standard levels were 50, 100, 200 μg/kg, the recovery rates were 72.6%–115.2%, the relative standard deviations were 0.6%–7.5%. **Conclusion** The method established in this study is applied to the determination of 16 kinds of OCPs in real samples with satisfactory results.

Key words: gas chromatography; aquatic products; organochlorine pesticide

近年来, 水体污染越来越严重, 水产品也不断受到严重威胁, 重金属和有机物是其主要的污染物。因此, 有必要对水产品进行污染物监测。有机氯农药作为杀虫剂, 具有杀虫效率高、易分解等特点, 在提高粮食和蔬菜的产量与质量等方面起着积极的作用, 为目前农业生产上控制病虫害的主要农药之一。但是, 在使用过程中存在着许多问题, 如超剂量使用, 使用禁用产品, 不按操作规程使用等。因此, 很容易污染水体, 从而造成水产品中有机氯残留超标的问题, 且有机氯可在人体内蓄积导致中毒, 因此对有机氯农药的监管尤为重要。目前, 农药残留检测方法主要有气相色谱法^[1-8]、气相色谱-质谱法^[9-11]、液相色谱-质谱法^[12]等。但由于气质联类仪器用较为昂贵, 因此气相色谱仪还是检测农药残留的主要仪器。本文建立了采用固相萃取净化气相色谱同时检测水产品中 16 种有机氯农药残留的方法, 现报道如下。

1 材料与方 法

1.1 仪器与试剂 (1) 仪器: Agilent 6890N 气相色谱仪(美国 Agilent 公司); FSH-II 型高速电动匀浆器(环宇仪器公司); TGL-16 台式高速冷冻离心机(湖南湘仪); Vortex-genie22T 涡旋振荡器(上海凌初公司); Techne 氮吹仪(美国 TECHNE 公司); AR2130 电子天平(感量 0.000 1 g); WSZ-20A 振荡器(上海-恒科技有限公司); DIKMA 氨基固相萃取柱(Carb/NH₂, 迪马); LABOROTA4000eco 旋转蒸发器(德国)。(2) 试剂: 16

种有机氯农药单标(100 μg/mL, 1 mL)均购自农业部环境保护科研监测所; 乙腈、丙酮、正己烷(色谱纯, 默克); 氯化钠(分析纯); 无水硫酸钠(分析纯, 使用前在 650 °C 灼烧 4 h, 贮于干燥容器中, 冷却后备用)。16 种有机氯农药混合标准溶液的配制, 精确吸取 0.1 mL 各有机氯农药单标, 用丙酮溶液定容至 10 mL 容量瓶中, 配成 1.0 mg/L 混合标准使用液。精确吸取适量的混合标准使用液, 用丙酮溶剂稀释, 配制成含 16 种有机氯农药的质量浓度分别为 0.05、0.10、0.20、0.50、1.00 mg/L 的系列标准工作液。(3) 受检试样: 试样采购自江苏淮安地区市售的鲫鱼、青虾、螃蟹、河蚌等。分别取可食部分, 匀浆后于 -20 °C 下贮存备用。

1.2 试验方法

1.2.1 样品提取 称取匀浆样品 5.0 g 于 50 mL 离心管中, 加入 5.0 g 氯化钠和 20 mL 乙腈, 涡旋混匀 1 min, 超声提取 30 min, 加入 8.0 g 无水硫酸钠, 涡旋混匀 1 min, 5 000 r/min 离心 5 min, 取上清液于鸡心瓶中。用 10 mL 乙腈重复提取一次, 合并提取液, 30 °C 水浴中减压浓缩至近干, 待净化。

1.2.2 固相萃取净化 用 5 mL 丙酮-正己烷(1:9, v/v), 5 mL 正己烷依次活化氨基固相萃取柱(Carb/NH₂), 提取气相色谱液用正己烷复融至 5 mL 后上样并收集, 用 20 mL 丙酮-正己烷(1:9, v/v)洗脱, 收集合并洗脱液, 30 °C 水浴中减压浓缩至近干, 用正己烷定容至 1 mL 过膜, 待气相色谱分析测定。

* 基金项目: 淮安市科技局科技发展计划基金项目(HAS2015030); 2015 年度淮安市疾控系统预防医学科研课题项目(hayf201520)。作者简介: 宋鑫, 男, 主管药师, 主要从事理化检验研究。△ 通讯作者, E-mail: maoli@njmu.edu.cn。

1.2.3 气相色谱分析条件 色谱柱为 HP-5 (30 m×0.32 mm, 25 μm) (美国 Agilent 公司); 电子捕获检测器 (ECD), 300 °C。载气为氮气 (纯度大于 99.999%); 载气流速为 1.0 mL/min, 尾吹 50 mL/min。不分流进样; 进样量为 1 μL; 柱温程序采用程序升温法, 初始温度为 60 °C, 保持 1 min; 以 40 °C/min 升至 170 °C; 以 2 °C/min 升至 235 °C; 以 40 °C/min 升至 280 °C。

1.3 统计学处理 采用 SPSS19.0 软件进行数据处理及统计学分析。

2 结果

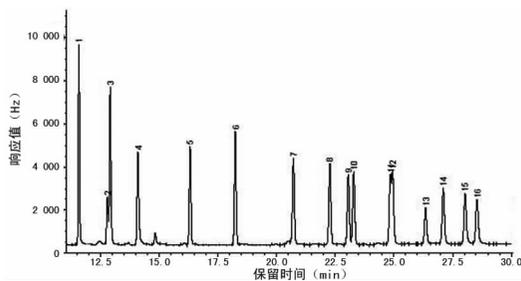
2.1 提取溶剂的选择 本试验对乙腈、丙酮-二氯甲烷 (1:1, v/v)、丙酮-正己烷 (1:1, v/v) 等提取溶剂对有机氯农药的提取效率进行了考察。以河蚌肉进行加标回收试验 (加标水平为 50 μg/kg, 平行测定 3 次) 进行对比, 见图 1 (见《国际检验医学杂志》网站首页“论文附件”)。从中可以看出不同的提取溶剂对大多数的有机氯农药组分的提取效果相差不大。在对艾氏剂、b-六六六、狄氏剂等 6 种组分比较中, 乙腈提取回收率为 79.9%~95.3%, 优于丙酮-正己烷 (65.3%~85.3%) 和丙酮-二氯甲烷 (48.6%~72.3%), 选用乙腈作为提取试剂。

2.2 固相萃取柱选择 本试验通过对 Carb/NH₂、Florisil 净化柱及 C18 固相萃取柱进行加标试验比较, 以鲫鱼肉进行加标回收试验 (加标水平为 100 μg/kg, 平行测定 3 次) 进行对比。从中得出各组分回收率在使用 Carb/NH₂ 时为 92.6%~100.5%, Florisil 净化柱为 76.9%~89.3%, C18 固相萃取柱为 69.9%~81.3%, 使用 Carb/NH₂ 净化最优。

2.3 气相色谱测定 16 种有机氯农药混合标准溶液 (1.0 mg/L) 和蟹肉基质加标 (0.1 mg/L) 的色谱图见图 2, 3。

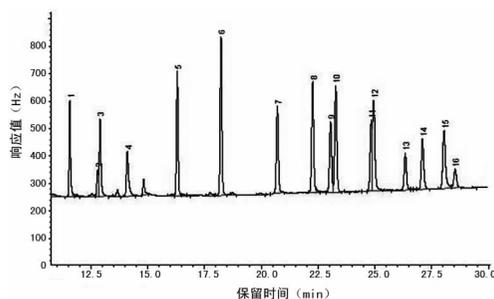
2.4 标准曲线和检出限 对混合标准溶液用丙酮稀释, 将 16

种有机氯农药配制成质量浓度分别为 0.05、0.10、0.20、0.50、1.00 mg/L 的系列标准工作液进行气相色谱测定。每个浓度点平行测定 3 次, 以峰面积平均值对质量浓度进行线性回归, 得到的回归方程见表 1。各有机氯农药的线性范围在 0.05~1.00 mg/L, 相关系数均大于 0.998。



1: α-六六六; 2: β-六六六; 3: γ-六六六; 4: δ-六六六; 5: 七氯; 6: 艾氏剂; 7: 环氧七氯; 8: g-氯丹; 9: 硫丹 I; 10: a-氯丹; 11: p, p'-滴滴伊; 12: 狄氏剂; 13: 异狄剂; 14: 硫丹 II; 15: p, p'-滴滴滴; 16: p, p'-滴滴涕。

图 2 16 种有机氯农药混合标准溶液 (1.0 mg/L) 色谱图



1~16: 同图 1。

图 3 蟹肉基质加标 (0.1 mg/L) 的色谱图

表 1 16 种有机氯农药的保留时间、线性方程、相关系数、检出限

农药	保留时间 (min)	线性方程	相关系数 (r)	检出限 (μg/kg)
α-六六六	11.576	Y=3 681.7X+49.1	0.999 1	0.13
β-六六六	12.808	Y=16 106.9X-106.2	0.999 2	0.27
γ-六六六	12.907	Y=9 779.2X+16.2	0.999 2	0.26
δ-六六六	14.103	Y=12 467.8X+45.6	0.998 8	0.31
七氯	14.824	Y=10 323.7X+195.5	0.999 2	0.22
艾氏剂	16.307	Y=10 430.9X+203.4	0.999 0	0.30
环氧七氯	18.232	Y=9 362.6X+63.7	0.999 1	0.23
g-氯丹	20.710	Y=10 196.9X+48.5	0.999 1	0.14
硫丹 I	22.263	Y=9 683.7X-35.2	0.998 9	0.16
a-氯丹	23.050	Y=4 602.3X+10.8	0.999 3	0.04
p, p'-滴滴伊	23.278	Y=8 085.4X+64.9	0.999 1	0.12
狄氏剂	24.839	Y=7 625.3X+46.4	0.999 0	0.05
异狄剂	24.948	Y=7 845.3X+72.7	0.999 4	0.10
硫丹 II	26.339	Y=5 772.6X-113.0	0.999 2	0.06
p, p'-滴滴滴	27.097	Y=9 723.2X+54.0	0.999 2	0.21
p, p'-滴滴涕	28.044	Y=4 768.0X-18.1	0.999 4	0.19

2.5 精密度检测和回收试验 分别取不含有上述 16 种农药的空白水产品样品作为基质,进行低、中、高 3 种不同水平(50、100、200 $\mu\text{g}/\text{kg}$)的加标回收试验,每个水平平行检测 6 次,3 个加标水平的平均回收率为 72.6%~115.2%,相对标准偏差(RSD)均小于 7.5%,见表 2(见《国际检验医学杂志》网站首页“论文附件”)。说明方法的准确度和精密度良好。

2.6 样品检测 应用本方法对 40 份不同采样地点的水产品,如鲫鱼、青虾、螃蟹、河蚌等样品进行有机氯农药残留的检测,均未检出有机氯。

3 讨论

目前,农药多残留分析方法采用的提取溶剂有丙酮、作为二氯甲烷、乙腈、正己烷等。通过试验比较,本实验采用乙腈作为溶剂,而乙腈也具有通用性强,对农药的溶解度较大,可溶入油脂类杂质少,且分子小,组织穿透能力强等特点。

使用固相萃取柱可以有效净化基质中脂肪等杂质,而不同的固相萃取柱对样品基质净化的效率也不相同。本文通过加标回收试验比较了 3 种不同固相萃取柱的回收率,选择 Carb/ NH_2 。

本文建立了采用乙腈提取,Carb/ NH_2 固相萃取柱净化,气相色谱检测水产品中有机氯类农药残留的检测方法。本方法检测灵敏度高,精密度好,线性好,能满足有机氯类农药残留分析的要求,为水产品类食物中有机氯类农药残留分析提供了可靠的检测手段,也为有机氯类及其他农药品种的检测提供了参考依据。

参考文献

[1] Ameer WB, Trabelsi S, Megdiche YE, et al. Concentration of polychlorinated biphenyls and organochlorine pesticides in mullet (*Mugil cephalus*) and sea bass (*Dicentrarchus labrax*) from Bizerte Lagoon(Northern Tunisia)[J]. *Chemosphere*, 2013, 74(3): 2372-2380.

[2] 田良,史永富,王媛,等.气相色谱法测定虾中有机氯农药和多氯联苯残留量[J]. *分析试验室*, 2014, 33(9): 1043-1046.

[3] 张小辉,贾海燕,祁士华,等.汉江水体和鱼体内有机氯农药残留水平及积累特征分析[J]. *安全与环境工程*, 2014, 21(2): 40-45.

[4] 刘慧慧,徐英江,邓旭修,等.莱州湾及东营近岸海域生物体中有机氯农药和多氯联苯污染状况与风险评价[J]. *海洋与湖沼*, 2013, 44(5): 1325-1332.

[5] 郑林,施泽明,李佳宣,等.微波萃取气相色谱法测定鱼肉中有机氯残留[J]. *四川理工学院学报:自然科学版*, 2010, 23(1): 62-64.

[6] 张权,陈文生,洪亮,等. MSPD-GPC 净化 GC-ECD 法测定辣椒酱中 8 种有机氯农药残留分析[J]. *食品科学*, 2014, 35(8): 295-298.

[7] 白有成,金海燕,卢勇,等.长江口嵊泗海域的生物体内持久性污染物残留量及分布特征[J]. *海洋学研究*, 2011, 29(3): 162-168.

[8] 安东,秦春艳,方展强,等.珠江口 14 种习见水生动物体内滴滴涕含量的测定与评价[J]. *天津农业科学*, 2014, 20(1): 33-39.

[9] 肖丽和,刁璇,谢耀轩,等. QuEChERS 法联合在线 GPC-GC-MS 检测冠心病丹参胶囊中 20 种有机氯农药残留[J]. *中国新药杂志*, 2014, 23(15): 1749-1753.

[10] 孙晓杰,郭萌萌,王苏玥,等.分散固相萃取-在线凝胶色谱-气相色谱-质谱联用法快速检测紫菜中的农药多残留[J]. *色谱*, 2014, 32(10): 1124-1130.

[11] 谢耀轩,王淑红,王铁杰,等.分散固相萃取-在线凝胶渗透色谱-气相色谱-质谱法检测香港中成药中 20 种有机氯农药残留[J]. *沈阳药科大学学报*, 2014, 31(7): 535-541.

[12] 叶瑞洪,苏建峰.分散固相萃取-超高效液相色谱-串联质谱法测定果蔬、牛奶、植物油和动物肌肉中残留的 61 种有机磷农药[J]. *色谱*, 2011, 29(7): 618-623.

(收稿日期:2015-12-20)



(上接第 732 页)

and beta-thalassemia mutations in Yunnan Province of South-western China[J]. *Hemoglobin*, 2012, 36(5): 464-473.

[5] 陈星,初德强,梁开艳,等.全自动毛细管电泳技术在筛查地中海贫血中的临床诊断价值[J]. *中国实验诊断学*, 2014, 18(4): 635-638.

[6] 张强,何升,阙婷,等. ROC 曲线确立血液学各指标在地贫筛查中的 CUT-OFF 值[J]. *中国优生与遗传杂志*, 2013, 19(1): 25-27.

[7] 索明环,温冬梅,张秀明,等.全自动毛细管电泳检测 11519 例血血红蛋白的结果分析[J]. *检验医学与临床*, 2013, 10(8): 913-914.

[8] 彭兰芬,汤惠华,曾见芬,等.新生儿脐血血红蛋白电泳对 α -珠蛋白生成障碍性贫血基因诊断的价值[J]. *分子诊断与治疗杂志*, 2010, 23(1): 40-42.

[9] Liao C, Zhou JY, Xie XM, et al. Cord blood analysis for rapid prenatal confirmation of Hb Bart's disease using the Sebia Capillary electrophoresis system[J]. *Hemoglobin*, 2012, 36(2): 186-191.

[10] Mantikou E, Harteveld CL, Giordano PC. Newborn screening for

hemoglobinopathies using capillary electrophoresis technology: testing the Capillary neonat fast Hb device[J]. *Clin Biochem*, 2010, 43(16): 1345-1350.

[11] Munkongdee T, Pichanun D, Butthep P, et al. Quantitative analysis of Hb Bart's in cord blood by capillary electrophoresis system[J]. *Ann Hematol*, 2011, 90(7): 741-746.

[12] Rugless MJ, Fisher CA, Stephens AD, et al. Hb Bart's in cord blood: an accurate indicator of alpha-thalassemia[J]. *Hemoglobin*, 2006, 30(1): 57-62.

[13] 叶立新,袁晃坤,甘文彬,等.干血斑毛细管电泳技术在新生儿 α -地中海贫血筛查中的应用[J]. *中国妇幼保健*, 2015, 32(8): 1205-1207.

[14] 张翠梅,王莹,高建慧,等.中山市户籍人群中 α -地中海贫血的分子流行病学调查[J]. *中国儿童保健杂志*, 2010, 18(5): 361-364.

(收稿日期:2015-12-28)