

DOI: 10.3724/SP.J.1096.2010.01433

气相色谱法测定火锅底料中的 多种有机氯农药和拟除虫菊酯农药残留

王波^{1,2} 李贤良³ 张雷³ 王国民³ 曹淑瑞³ 张进忠^{*1}

¹(西南大学资源环境学院,重庆400716) ²(重庆化工职业学院,重庆400020)

³(重庆出入境检验检疫局,重庆市进出口食品安全工程技术研究中心,重庆400020)

摘要 建立了火锅底料中21种有机氯农药和6种拟除虫菊酯农药残留的同时测定方法。样品经乙腈超声提取,凝胶渗透色谱、弗罗里硅土固相萃取柱和N-丙基-2-乙二胺净化,毛细管气相色谱柱分离后,微电子捕获检测器检测。火锅底料中有机氯农药和拟除虫菊酯农药的检出限分别为0.082~2.3 μg/kg和1.5~13.0 μg/kg;有机氯农药的加标水平为10, 20和50 μg/kg,拟除虫菊酯农药为20, 40和100 μg/kg时,27种农药的平均回收率为70.5%~116.0%;相对标准偏差为0.2%~6.1%。本方法快速、灵敏、可靠,可用于火锅底料中多种农药残留的同时检测。

关键词 火锅底料;有机氯农药;拟除虫菊酯农药;气相色谱法;多残留检测

1 引言

有机氯农药和拟除虫菊酯农药均为高效广谱杀虫剂^[1,2],在农业生产中都曾被广泛使用。有机氯农药虽已被世界各国禁止使用,但其化学性质非常稳定,能够长期残留在土壤中;拟除虫菊酯农药的频繁使用也使其大量残留在土壤和农产品中^[3]。目前,世界各国对两类农药的最大残留限量都作了严格规定^[4]。因此,建立多种农药残留的同时检测方法,对于保证食品安全、保护人体健康都具有重要意义。

有机氯农药和拟除虫菊酯农药残留分析方法主要有气相色谱法^[5,6]、气相色谱-质谱联用法^[7]、液相色谱-质谱联用法^[8]和高效毛细管电泳法^[9]等。这些方法通常采用混合有机溶剂提取,硫酸磺化或凝胶渗透色谱净化,可检测部分单一农产品中的多种农药残留。火锅底料是一种使用比较广泛的调味品,其原料(如辣椒、花椒和大蒜等)中可能带入有机氯农药和拟除虫菊酯农药。此外,火锅底料中还存在多种动植物油脂和色素,基质复杂,要同时检测其中的农药残留,必须采用有效的提取、分离和净化技术。

本研究通过调查火锅底料的原料组成,并根据日本、东南亚和欧盟等组织检测食品中的农药种类,选定21种有机氯农药和6种拟除虫菊酯农药,旨在建立同时检测火锅底料中多种农药残留的方法。

2 实验部分

2.1 仪器与试剂

7890A气相色谱仪(美国Agilent公司),配微电子捕获检测器;旋涡混合器(江苏康健医疗用品有限公司);超声清洗仪(昆山市超声仪器有限公司);台式高速冷冻离心机(德国Hermle公司);旋转蒸发仪(德国Heidolph公司);凝胶渗透色谱仪(北京绿绵巨贸科贸有限公司);弗罗里硅土固相萃取柱(1 g, 6 mL, Supelco公司,内填1 cm无水Na₂SO₄,加入5 mL正己烷,在常压下预处理活化)。

乙腈、乙酸乙酯、环己烷、二氯甲烷和正己烷均为色谱纯;无水Na₂SO₄(650℃灼烧4 h,冷却至室温后备用)和N-丙基乙二胺(PSA)均为分析纯;柱层析硅胶(粒径0.050~0.065 mm)。

所有农药标准品均购自国家标准物质中心(纯度≥99.0%)。

2.2 标准溶液的配制

分别准确称取适量的农药标准品,用正己烷配制成100.0 mg/L的单一标准贮备液,于-18℃冰箱

中保存,根据需要用正己烷稀释配制相应浓度的混合标准工作溶液。

2.3 样品制备

称取 10.0 g 火锅底料样品,加入柱层析硅胶研磨混匀,转移至离心管中,加入 5 g NaCl、40 mL 乙腈在旋涡混合器上混匀,超声提取 10 min 后,以 6000 r/min 离心 5 min, 收集上清液于旋蒸瓶中。再用 20 mL 乙腈提取 2 次,合并提取液,于 40 °C 水浴旋蒸至近干,加入 10 mL 乙酸乙酯-环己烷(1:1, V/V),转移至凝胶色谱柱上净化,收集 9~20 min 的流出液,并旋蒸至近干。在旋蒸瓶中加入 0.2 g PSA 和 2 mL 正己烷,混匀后转入萃取柱,加入 8 mL 二氯甲烷-正己烷(95:5, V/V)洗脱,收集洗脱液于 25 mL 旋蒸瓶,再于 40 °C 水浴浓缩至近干,以 1 mL 正己烷溶解,经 0.45 μm 滤膜过滤后,供气相色谱分析。

2.4 色谱条件

凝胶渗透色谱(GPC)条件: Bio-Beads S-X3 凝胶色谱柱(400 mm × 25 mm);流动相为环己烷-乙酸乙酯(1:1, V/V);流速: 5 mL/min;柱温: 40 °C;进样体积: 5 mL。

气相色谱条件: DB-1701 毛细管柱(30 m × 0.25 mm, 0.25 μm);载气及流速: 氮气(>99.999%), 1.0 mL/min;进样口温度: 250 °C;检测器温度: 300 °C;进样量: 1 μL;色谱柱升温程序: 60 °C 保持 1 min, 以 40 °C/min 升至 200 °C, 再以 2 °C/min 升至 240 °C, 保持 1 min, 最后以 40 °C/min 升至 280 °C, 保持 1 min。

3 结果与讨论

3.1 色谱条件的选择

比较了 DB-1701 毛细管柱和 HP-5 毛细管柱对 27 种农药的分离效果。结果表明,HP-5 毛细管柱不能有效分离艾氏剂与 β -六六六、环氧七氯与 α -硫丹、氯氰菊酯的同分异构体;而 DB-1701 毛细管柱能将 27 种农药有效分离,且色谱峰形良好(图 1),同时获得了最佳的载气流速、进样口温度和程序升温速率等气相色谱条件(见 2.4 节)。

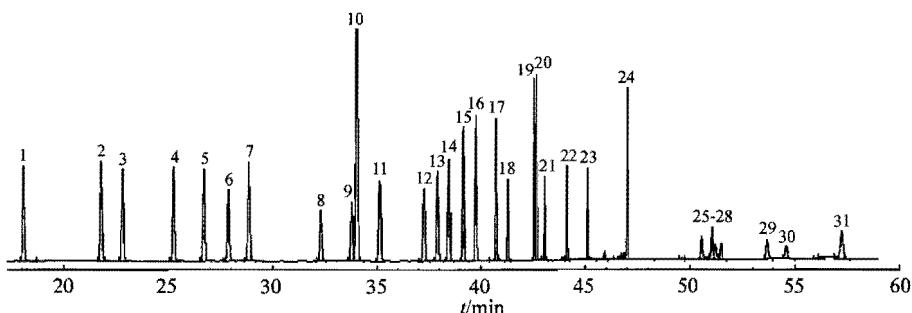


图 1 21 种有机氯农药(100 μg/L)和 6 种除虫菊酯农药(200 μg/L)混合标准溶液的气相色谱图

Fig. 1 Chromatograms of 21 organochlorine and 6 pyrethroid pesticides standard

1. 六氯苯(Hexachlorobenzene); 2. α -六六六(α -Hexachlorocyclohexane, α -HCB); 3. 五氯硝基苯(Quintozone);
4. γ -六六六(γ -Hexachlorocyclohexane, γ -HCB); 5. 七氯(Heptachlor); 6. 五氯苯胺(Pentachloroaniline); 7. 艾氏剂(Aldrin); 8. β -六六六(β -Hexachlorocyclohexane, β -HCB); 9. 氧化氯丹(Oxychlordane); 10. δ -六六六(δ -Hexachlorocyclohexane, δ -HCB); 11. 环氧七氯(Heptachlor epoxide); 12. α -硫丹(α -Endosulfan); 13. β -氯丹(β -Chlordane); 14. α -氯丹(α -Chlordane); 15. p,p' -滴滴涕(2,2-Bis(*p*-Chlorophenyl)-1,1-dichloroethene, *p,p'*-DDE); 16. 狄氏剂(Dieldrin); 17. 异狄氏剂(Endrin); 18. *o,p'*-滴滴涕(2-(2-Chlorophenyl)-2-(4-chlorophenyl)-1,1,1-trichloroethane, *o,p'*-DDT); 19. β -硫丹(β -Endosulfan); 20. p,p' -滴滴涕(1,1'-(2,2-Dichloroethylidene) bis(4-chlorobenzene, *p,p'*-DDD); 21. p,p' -滴滴涕(4,4'-(2,2,2-Trichloroethane-1,1-diy) bis(chlorobenzene), *p,p'*-DDT); 22. 联苯菊酯(Bifenthrin); 23. 甲氰菊酯(Fenpropathrin); 24. 氯氟菊酯(Cyhalothrin); 25. 氯氰菊酯 1(Cypermethrin); 26. 氯氰菊酯 2(Cypermethrin); 27. 氯氰菊酯 3(Cypermethrin); 28. 氯氰菊酯 4(Cypermethrin); 29. 氯戊菊酯 1(Fenvalerate); 30. 氯戊菊酯 2(Fenvalerate); 31. 氯氟菊酯(Deltamethrin)。

3.2 提取剂的选择

火锅底料中存在的大量油脂和色素是造成基质干扰的主要原因,应避免在提取过程中与目标化合物共提取。比较了乙腈、丙酮-正己烷(4:3, V/V)和石油醚-丙酮(1:1, V/V)的提取效率,对加入火锅底

料中的27种农药标准品的平均回收率分别为80%~110%，75%~90%和70%~87%。由于乙腈在样品基质中的渗透能力强，对油脂和色素的溶解能力最弱，且能很好地溶解大多数有机氯农药和拟除虫菊酯农药，是农药多残留分析常用的提取剂。因此选用乙腈作为农药残留的提取剂。

3.3 净化条件的选择

3.3.1 凝胶渗透色谱净化 GPC净化能有效去除样品中的脂类、色素等大分子干扰物，常用于动物源性食品中农药提取液的净化^[10]。因此，本研究中采用 GPC 进行第一步净化。在 2.4 节的实验条件下，考察了加入 27 种农药混合标准溶液后的净化效果，获得的淋洗曲线（图 2）。提取液经 GPC 净化后，只需收集 9~20 min 的流出液即可进行多种农药残留分析。

3.3.2 固相萃取净化 在检测有机氯农药和拟除虫菊酯农药残留时，通常采用固相萃取柱（SPE）净化提取液，如石墨化碳柱、弗罗里硅土柱和中性氧化铝柱^[11]。在 GPC 净化去除大部分油脂、色素等杂质后，还需进一步除去剩余的色素和小分子杂质。比较了上述 SPE 柱和淋洗剂乙酸乙酯-石油醚（1:1, V/V）、丙酮-正己烷（1:1, V/V）、正己烷-乙醚（1:1, V/V）和二氯甲烷-正己烷（95:5, V/V）对火锅底料中加入 27 种农药后的洗脱效果（图 3）。结果表明，选用弗罗里硅土 SPE 柱净化、8 mL 二氯甲烷-正己烷淋洗时，获得的平均回收率为 80%~100%，能够满足农药残留分析的要求。

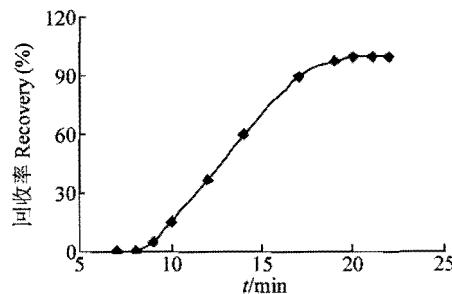


图 2 凝胶渗透色谱(GPC)淋洗曲线

Fig. 2 Elution curve of gel permeation chromatography (GPC)

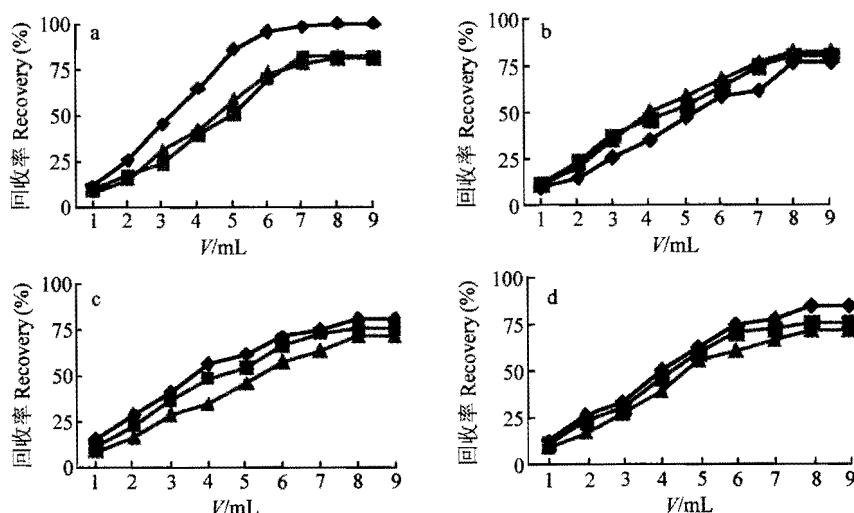


图 3 淋洗剂和固相萃取柱对回收率的影响 ($n=4$, RSD < 6.7%)

Fig. 3 Effect of eluent and solid phase extraction column on recovery ($n=6$, RSD < 6.7%)

a. 二氯甲烷-正己烷 (Dichloromethane-hexane, 95:5, V/V); b. 乙酸乙酯-石油醚 (Ethyl acetate-petroleum ether, 1:1, V/V); c. 丙酮-正己烷 (Acetone-hexane, 1:1, V/V); d. 正己烷-乙醚 (Hexane-ether, 1:1, V/V)。
 (◆) 弗罗里硅土 (Florisil); (■) 中性氧化铝 (Alumina N-neutra); (▲) 石墨化碳 (Graphitized carbon)。

3.3.3 PSA 净化 PSA 分子中含有两个氨基，有比普通氨基柱更强的离子交换能力。它对脂肪酸和一些极性色素具有很强的亲和力和较高的容量，能用于植物样品中农药残留分析的前处理^[12]。在上述两级净化后的提取液中仍含有少量的脂肪酸等小分子杂质，加入 PSA 进行基质固相分散净化。图 4 比较了空白样品中添加 27 种农药在有无 PSA 净化时的 GC 图。

研究表明，加入 PSA 进一步净化后，避免了杂质对目标化合物的干扰，火锅底料中的农药分离得更好，获得了更加清晰的色谱峰。实验发现，当 PSA 用量为 0.2 g 时，净化效率达到 80%；继续增大 PSA 用量，净化效率无明显变化。

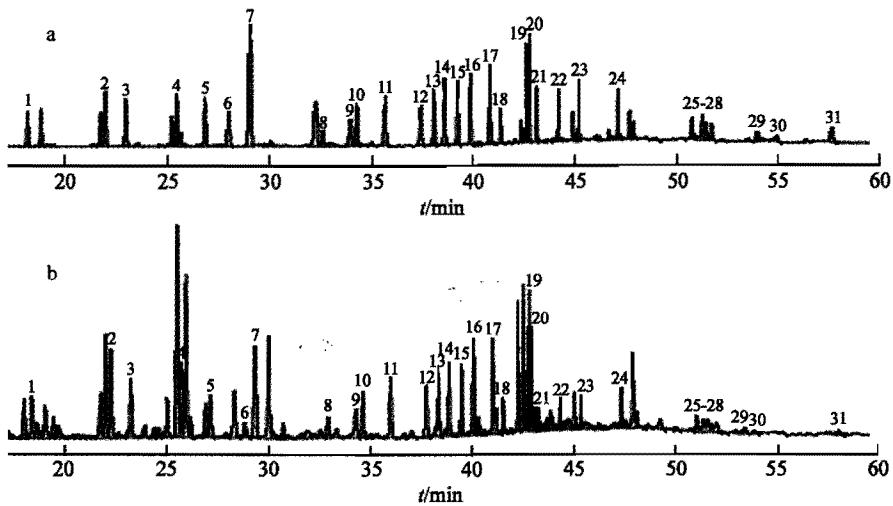


图4 空白火锅底料样品添加农药标准(50 μg/L)的气相色谱图

Fig. 4 Chromatograms for blank hotpot condiment spiked with pesticides standard

a. PSA 纯化(Purified by PSA); b. 未用PSA纯化(Unpurified by PSA)。峰编号同图1(Peak number is the same as in Fig. 1)。

3.4 线性范围和检出限

在选定的色谱条件下进行测定,以峰面积对农药标准溶液浓度作校正曲线,获得了27种农药的线性范围,以3倍信噪比计算检出限(LOD),结果如表1所示。本方法对拟除虫菊酯农药、 β -HCB、七氯和六氯苯的检出限低于文献[5,10],对其它有机氯农药的检出限高于文献[10]。本方法能够满足复杂基质火锅底料中农药多残留分析的要求。

表1 27种农药的线性范围和检出限

Table 1 Linear ranges and LODs of 27 pesticides

农药 Pesticide	线性范围 Linear range (μg/L)	相关系数 Correlation coefficient	检出限 Limit of detection (μg/kg)	农药 Pesticide	线性范围 Linear range (μg/L)	相关系数 Correlation coefficient	检出限 Limit of detection (μg/kg)
六氯苯 Hexachlorobenzene	10~500	0.9991	0.30	p,p' -滴滴涕 p,p' -DDE	10~500	0.9985	1.8
α -六六六 α -HCB	10~500	0.9976	0.38	狄氏剂 Dieldrin	10~500	0.9984	1.0
五氯硝基苯 Quintozene	10~500	0.9982	0.42	异狄氏剂 Endrin	10~500	0.9981	1.3
γ -六六六 γ -HCB	10~500	0.9985	0.66	o,p' -滴滴涕 o,p' -DDT	10~500	0.9991	1.9
七氯 Heptachlor	10~500	0.9985	0.082	β -硫丹 β -Endosulfan	10~500	0.9943	0.084
五氯苯胺 Pentachloroaniline	10~500	0.9993	0.36	p,p' -滴滴涕 p,p' -DDD	10~500	0.9991	0.43
艾氏剂 Aldrin	10~500	0.9988	0.35	p,p' -滴滴涕 p,p' -DDT	10~500	0.9989	1.9
β -六六六 β -HCB	10~500	0.9973	0.65	联苯菊酯 Bifenthrin	20~100	0.9992	1.5
氧化氯丹 Oxychlordane	10~500	0.9972	2.3	甲氰菊酯 Fenpropathrin	20~100	0.9960	1.5
δ -六六六 δ -HCB	10~500	0.9991	0.56	氯氟氰菊酯 Cyhalothrin	20~100	0.9989	1.2
环氧七氯 Heptachlor epoxide	10~500	0.9982	1.5	氯氟菊酯 Cypermethrin	20~100	0.9983	6.9
α -硫丹 α -Endosulfan	10~500	0.9988	1.4	氟戊菊酯 Fenvalerate	20~100	0.9987	10.3
β -氯丹 β -Chlordane	10~500	0.9985	1.3	溴氰菊酯 Deltamethrin	20~100	0.9933	13
α -氯丹 α -Chlordane	10~500	0.9988	1.1				

3.5 加标回收率和精密度

在不含农药的样品中分别添加 21 种有机氯农药(10, 20 和 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$)和 6 种拟除虫菊酯农药(20, 40 和 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$)的混合标准工作溶液, 按本方法重复检测 5 次, 27 种农药的平均回收率为 70.5% ~ 116.0%, RSD 为 0.2% ~ 6.1% (表 2)。空白火锅底料及其加标样品的色谱图见图 5。

表 2 27 种农药在空白火锅底料中的添加回收率和精密度

Table 2 Recoveries and precision of 27 pesticides in hotpot condiment

农药 Pesticide	添加量 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	回收率 Recovery (%)	RSD (%)	添加量 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	回收率 Recovery (%)	RSD (%)	添加量 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	回收率 Recovery (%)	RSD (%)
六氯苯 Hexachlorobenzene	10	83.5	3.6	20	85.35	3.0	50	81.0	2.8
α -六六六 α -HCB	10	112.2	1.8	20	91.35	1.6	50	105.1	1.3
五氯硝基苯 Quintozene	10	90.5	4.7	20	80.05	4.1	50	96.8	3.8
γ -六六六 γ -HCB	10	105.4	0.2	20	103.52	0.4	50	115.7	0.3
七氯 Heptachlor	10	70.5	1.3	20	86.36	0.9	50	109.6	0.9
五氯苯胺 Pentachloroaniline	10	73.2	1.5	20	80.66	1.1	50	83.2	0.9
艾氏剂 Aldrin	10	71.2	2.7	20	80.25	2.1	50	82.6	1.9
β -六六六 β -HCB	10	108.3	0.5	20	91.38	0.4	50	97.1	0.3
氧化氯丹 Oxychlordane	10	110.3	0.6	20	116.52	0.4	50	102.2	0.4
δ -六六六 δ -HCB	10	73.6	4.2	20	80.34	3.6	50	81.3	3.4
环氧七氯 Heptachlor epoxide	10	83.2	2.1	20	80.76	1.9	50	100.8	1.2
α -硫丹 α -Endosulfan	10	77.2	2.4	20	80.59	1.9	50	92.6	1.2
β -氯丹 β -Chlordane	10	80.6	1.9	20	85.78	1.2	50	95.6	1.0
α -氯丹 α -Chlordane	10	95.4	1.1	20	83.33	1.6	50	99.0	1.3
p,p' -滴滴涕 p,p' -DDE	10	111.9	2.3	20	88.09	2.0	50	94.2	1.7
狄氏剂 Dieldrin	10	77.5	4.1	20	82.96	3.7	50	95.7	3.0
异狄氏剂 Endrin	10	110.9	3.2	20	96.47	3.6	50	112.4	3.0
α,p' -滴滴涕 α,p' -DDT	10	113.5	1.0	20	81.87	0.8	50	116.0	0.8
β -硫丹 β -Endosulfan	10	81.1	0.9	20	85.45	0.8	50	97.8	0.7
p,p' -滴滴涕 p,p' -DDD	10	84.8	1.3	20	99.69	1.1	50	101.9	1.1
p,p' -滴滴涕 p,p' -DDT	10	85.3	2.8	20	89.51	2.4	50	94.3	2.2
联苯菊酯 Bifenthrin	20	107.3	2.4	40	86.65	2.2	100	89.5	2.0
甲氰菊酯 Fenpropathrin	20	102.8	1.7	40	91.60	1.3	100	103.0	1.0
氯氟氰菊酯 Cyhalothrin	20	75.8	5.8	40	79.64	5.1	100	80.1	4.3
氯氰菊酯 Cypermethrin	20	99.6	1.8	40	100.49	1.3	100	116.0	1.0
氰戊菊酯 Fenvalerate	20	85.4	1.5	40	84.32	1.8	100	100.3	1.1
溴氰菊酯 Deltamethrin	20	75.2	6.1	40	88.63	5.4	100	80.1	5.2

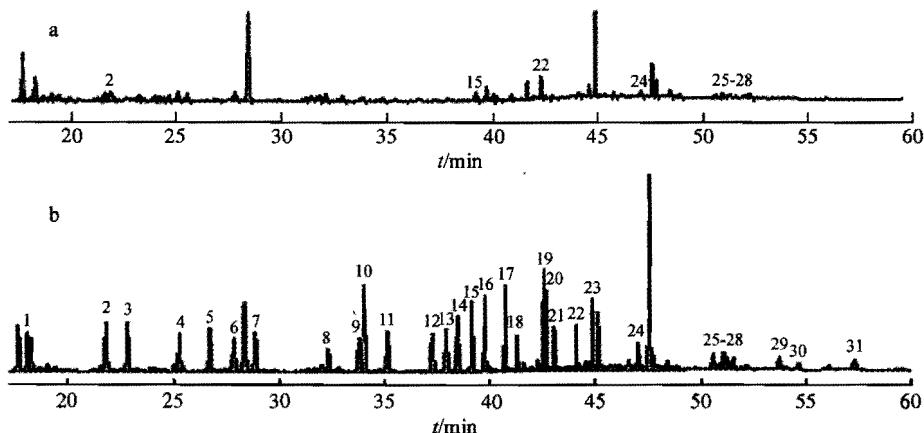


图 5 空白火锅底料(a)和加标火锅底料(b)的色谱图

Fig. 5 Chromatograms of blank hotpot condiments (a) and hotpot condiment spiked with pesticides standard, organochlorine 50 g/kg, pyrethroid 100 g/kg (b)

峰编号同图 1 (Peak number is the same as in Fig. 1)。

3.6 实际样品分析

随机抽取市售的5种火锅底料样品进行检测,在3种样品中发现六六六、环氧七氯、联苯菊酯和氯氰菊酯等农药残留,检出量均小于20 μg/kg,其它农药均未检出。

References

- 1 Nageswara R R, Khalid S, Rajani T, Husain S. *J. Chromatogr. A*, 2002, 954(1-2): 227~234
- 2 Lee D B, Prudente M S, Tanabe S, Tatsukawa R. *Toxicol. Environ. Chem.*, 1997, 609(1-4): 171~181
- 3 WANG Yun-Feng (王云凤), CHANG Chun-Yan (常春艳), CHEN Qi-Yong (陈其勇), GE Bao-Kun (葛宝坤), GAO Jian-Hui (高健会), MI Jie-Bo (宓捷波). *Journal of Instrumental Analysis* (分析测试学报), 2007, 9(26): 253~258
- 4 LIN Wei-Xuan (林维宣). *Dalian Maritime University Press* (大连海事大学出版社), 2003: 181~225
- 5 ZHU Li-Ping(朱莉萍), ZHU Tao(朱涛), PAN Yu-Xiang(潘玉香), SUN Jun(孙军), DONG Jing(董静). *Chinese J. Anal. Chem.* (分析化学), 2008, 36(7): 999~1003
- 6 MO Xiao-Rong(莫小荣), ZHENG Chun-Hui(郑春慧), CHEN Jian-Wei(陈建伟), ZHAO Dao-Yuan(赵道远), YANG Ming-Min(杨明敏). *Chinese J. Anal. Chem.* (分析化学), 2009, 37(8): 1178~1182
- 7 Albero B, Sanchez B, Runete C, Tadeo J L. *J. Agric. Food. Chem.*, 2004, 52(19): 5828~5830
- 8 Picón Y, Font G, Ruiz M J, Fernández M. *Mass Spectrom. Rev.*, 2006, 25(6): 917~960
- 9 LIN Zhen-Yu (林振宇), HUANG Lu (黄露), CHEN Guo-Nan (陈国南). *Chinese Journal of Chromatography* (色谱), 2009, 27(1): 9~18
- 10 WU Gang (吴刚), ZHAO Shan-Hong (赵珊红), YU Chun-Yan(俞春燕), WANG Hua-Xiong(王华雄), YE Qing-Fu (叶庆富), WU Hui-Ming (吴慧明). *J. Chinese Institute of Food Sci. Technol.* (中国食品学报), 2009, 9(2): 162~170
- 11 Domotorova M, Matisova E. *J. Chromatogr. A*, 2008, 1207(1-2): 1~16
- 12 WU Gang (吴刚), BAO Xiao-Xia(鲍晓霞), WANG Hua-Xiong (王华雄), YU Chun-Yan (俞春燕), WU Hui-Ming (吴慧明), YE Qing-Fu (叶庆富). *Chinese Journal of Chromatography* (色谱), 2008, 26(5): 577~582

Simultaneous Determination of Organochlorine and Pyrethroid Pesticide Residues in Hotpot Condiment by Gas Chromatography

WANG Bo^{1,2}, LI Xian-Liang³, ZHANG Lei³, WANG Guo-Min³, CAO Shu-Rui³, ZHANG Jin-Zhong^{*1}

¹(College of Resources and Environment, Southwest University, Chongqing 400716)

²(Chongqing Vocational University of Chemical Industry, Chongqing 400020)

³(Chongqing Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Chongqing Engineering Technology Research

Center of Import and Export Food Safety, Chongqing 400020)

Abstract A simultaneous detection method has been developed for 21 organochlorine and 6 pyrethroid pesticides in hotpot condiment. Pesticide residues were extracted with acetonitrile, purified by gel permeation chromatography, Florisil solid phase extraction column and primary secondary amine, and determined by gas chromatography with micro-electron capture detector. Limits of detection were varied in the range of 0.082~2.3 g/kg for organochlorine pesticides and 1.5~13.0 g/kg for pyrethroid pesticides, and the spiked recoveries were ranged from 70.1% to 116.0% with relative standard deviations around 0.2%~6.1%. This method is rapid, sensitive and reliable, and can be used to simultaneously detect multi-residues of pesticides in hotpot condiment.

Keywords Hotpot condiment; Organochlorine pesticide; Pyrethroid pesticide; Gas chromatography; Multi-residual detection