

SPE-GC 法同时检测草莓中 7 种常用农药的残留

杨振华, 魏朝俊, 贾临芳, 梁 丹, 赵建庄*

(北京农学院, 北京 102206)

摘 要:为检测草莓基质中的农药残留,建立了固相萃取-毛细管柱气相色谱方法,可同时检测草莓果实中百菌清、毒死蜱、粉唑醇、腈菌唑、高效氯氰菊酯、氰戊菊酯和啉菌酯 7 种农药的残留量。样品经乙腈提取, C_{18} 固相萃取柱净化, GC-ECD 进行定性及定量分析。百菌清、毒死蜱在 $0.05\sim 1.0\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, 粉唑醇、腈菌唑、高效氯氰菊酯、氰戊菊酯和啉菌酯在 $0.5\sim 10.0\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 浓度范围内呈现良好线性关系。方法平均回收率为 $85.3\%\sim 102.7\%$, RSD 小于 5%, 检出限范围为 $0.005\sim 0.132\ \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。该方法简单、快速、灵敏、准确,能满足国标中相关农药残留限量测定的要求。

关键词:草莓;气相色谱法;农药残留;检测

中图分类号:X836 文献标志码:A 文章编号:1672-2043(2012)11-2304-05

Simultaneous Determination of the Residue of Seven Commonly-used Pesticides in Strawberry with Solid-phase Extraction and Gas Chromatography

YANG Zhen-hua, WEI Chao-jun, JIA Lin-fang, LIANG Dan, ZHAO Jian-zhuang*

(Beijing University of Agriculture, Beijing 102206, China)

Abstract: A new method was developed to simultaneously detect the residue of 7 pesticides (chlorothalonil, chlorpyrifos, flutriafol, myclobutanil, beta-cypermethrin, fenvalerate and azoxystrobin) in strawberry with solid-phase extraction and gas chromatography. The strawberry samples were extracted with acetonitrile, purified with C_{18} solid-phase extraction column, and detected by GC-ECD. The calibration curves were of good linearity when chlorothalonil and chlorpyrifos were within a range from $0.05\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ to $1.0\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, and flutriafol, myclobutanil, beta-cypermethrin, fenvalerate and azoxystrobin were from $0.5\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ to $10.0\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$. The average recovery rates ranged from 85.3% to 102.7% , its relative standard deviation (RSD) were lower than 5%, and the limit of detection (LOD) for all compounds changed from $0.005\ \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ to $0.132\ \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$. This method is simple, rapid, delicate, accurate, and can meet the relevant requirements of determining pesticide residues in GB.

Keywords: strawberry; gas chromatography; pesticide residues; detection

草莓 (*Fragaria ananassa* Duchesne) 具有易栽培、当年结果、产量高、经济效益好等优点,近年来作为特种经济作物已成为首都现代农业一项重要的经济发

展项目。随着北京地区草莓种植面积迅速扩大,草莓病虫害防控中农药的用量日趋增多,草莓中潜在的残留农药检测问题也变得更为重要。作者从北京植保总站和北京昌平草莓种植基地调研得知,目前北京地区在防控草莓病虫害过程中,主要使用啉菌酯、粉唑醇、腈菌唑、百菌清等杀菌剂防治草莓白粉病、灰霉病和炭疽病等病害,使用毒死蜱、高效氯氰菊酯等杀虫剂防治温室中的螨类、蚜虫和飞虱等虫害。

查阅国外文献,利用 GC/QqQ-MS/MS 方法同时测定了草莓中 151 种农药^[1],利用 UPLC/TOFMS 法检测了草莓中 100 种农药^[2],这两种方法建立了草莓中农药高通量检测技术,但对仪器要求高,操作过程复杂;利用 QuEChERS-GC,MS/MS 方法测定了有机农

收稿日期:2012-04-23

基金项目:2011 第七届北京市教学名师项目;北京市属高等学校人才强教深化计划-学术创新人才(PHR201006124);北京市属高等学校人才强教深化计划(PHR201108278);北京市属高等学校人才强教深化计划(PHR200907136);农产品加工及贮藏工程北京市重点建设学科(PXM2009-014207-078172);首都农产品安全产业技术研究院成果转化项目(PXM2012-014207-000019);北京市教委科技面上项目(KM201210020014);北京市优秀人才培养项目(2010D005021000005)

作者简介:杨振华(1988—),男,山东梁山人,硕士,从事农药残留研究。E-mail: yzhua1234@126.com

* 通信作者:赵建庄 E-mail: zhaojianzhuang@263.net

业和病虫害综合管理中草莓上农药残留^[3],针对的是14种有机氯类农药。国内有关草莓残留农药检测研究的文献报道主要是针对一种农药^[4-10],多残留检测方法仅有李润岩等在2009年利用顶空固相微萃取-气质联用快速测定草莓中5种有机磷农药^[11]。对于北京地区草莓产业常用嘧菌酯、粉唑醇、腈菌唑、百菌清、毒死蜱、高效氯氰菊酯和氰戊菊酯7种农药的多残留检测方法则未有报道,因此建立针对性强、适用性好、服务首都草莓产业发展的农药多残留检测方法有着十分重要的意义。

从北京地区草莓病虫害防控所用农药的实际出发,作者采用固相萃取-毛细管柱气相色谱法对草莓中7种常用农药残留量进行快速测定,样品经乙腈提取,过C₁₈固相萃取柱净化,GC-ECD进行定性及定量分析。此方法简便、快速、灵敏、准确,能满足国标中相关农药残留量测定的要求。

1 材料与方法

1.1 实验仪器

Agilent 6890N 气相色谱仪,配电子捕获检测器(μ -ECD)(美国 Agilent 公司);Kubota6200 型离心机(日本 Kubota 公司);SC-8L-150 型数控固相萃取仪(广州智真生物科技有限公司);KQ-600 型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);Laborota4001 型旋转蒸发仪(德国 Heidolph 公司);FW-100 型高速组织粉碎机(天津市泰斯特仪器有限公司);移液枪(德国 Eppendorf 公司);XW-80A 型涡旋振荡器(上海沪西仪器厂);SHB-III 型循环水式多用真空泵(郑州长城仪器厂);其他玻璃仪器。

1.2 标准品及试剂

标准品:7种农药(百菌清、毒死蜱、粉唑醇、腈菌唑、高效氯氰菊酯、氰戊菊酯和嘧菌酯)标准品 100 mg·L⁻¹,均由农业部环境保护科研监测所提供,用正己烷(色谱纯)稀释成系列浓度的混合标样。

试剂:无水硫酸钠,于350℃灼烧4h后备用;氯化钠(分析纯,北京化学试剂公司);正己烷、丙酮为色谱纯(Tedia, Fairfield, OH, USA),乙腈为分析纯(北京化学试剂公司);0.45 μ m 微孔滤膜(上海新亚净化器件厂);C₁₈ 固相萃取柱:1000 mg·6 mL⁻¹(美国 Agilent 公司)。

1.3 色谱条件

色谱柱:HP-5 毛细管柱(30 m×0.32 mm i.d.×0.25 μ m)进样口温度 280℃,柱程序升温:初始温度 170

℃,以5℃·min⁻¹速率升温至210℃,保持5min;以10℃·min⁻¹的速率升温至265℃,保持11.5min。检测器温度300℃,压力93.3 kPa,载气为N₂,流速为2.0 mL·min⁻¹,尾吹N₂为40.0 mL·min⁻¹;进样量为1 μ L(不分流进样)。

1.4 样品前处理

1.4.1 样品提取

称取20.0 g已匀浆的均质草莓试样(昌平区农业服务中心提供)于250 mL锥形瓶中,加入50.0 mL乙腈和15 mL蒸馏水,超声提取30 min,抽滤至100 mL具塞量筒(量筒内预先加入10.0 g氯化钠)中,涡旋振荡1 min后静置1 h,待乙腈相和水相完全分离。吸取10 mL乙腈相于15 mL离心管(离心管内预先加入3 g无水硫酸钠)中,6000 r·min⁻¹离心5 min后吸取5 mL乙腈相于25 mL的圆底烧瓶中,旋转蒸发剩1 mL左右,待过柱净化。

1.4.2 样品净化

取C₁₈固相萃取柱,分别用3 mL正己烷和3 mL正己烷/丙酮(80:20)预淋洗柱子,待液面降至硅胶顶部时,将上述待净化溶液转移至柱中,弃去预淋洗液后,用5 mL正己烷/丙酮(80:20)洗脱净化柱两次,收集洗脱液于25 mL的圆底烧瓶中,50℃旋转蒸发至干,正己烷定容至1.0 mL,待测。

2 结果与分析

2.1 7种混合农药的气相色谱图

草莓中7种常用农药的出峰顺序及保留时间依次为(图1):百菌清 5.547 min、毒死蜱 7.494 min、粉唑醇 9.757 min、腈菌唑 10.790 min、高效氯氰菊酯 20.946 min、氰戊菊酯 22.400 min 和 22.912 min、嘧菌酯 25.289 min。由图1可以看出,7种农药的分离效果良好,峰形理想。

2.2 线性关系与检出限

表1列举了草莓中7种常用农药在5个不同浓度(其中百菌清和毒死蜱均为0.05、0.10、0.25、0.50、1.0 μ g·mL⁻¹,粉唑醇、腈菌唑、高效氯氰菊酯、氰戊菊酯和嘧菌酯均为0.5、1.0、2.5、5.0、10.0 μ g·mL⁻¹)水平下,按“1.3 色谱条件”进样分析所得各种农药的气相色谱峰的峰面积与其相对应的浓度作线性回归分析。通过软件计算其线性范围、相关系数、线性方程和检出限(S/N=3)。由表1可以看出,7种农药的线性范围宽,线性良好(相关系数为0.999 0~0.999 8),检出限完全能够达到国标中相关农药在草莓中最大残留限

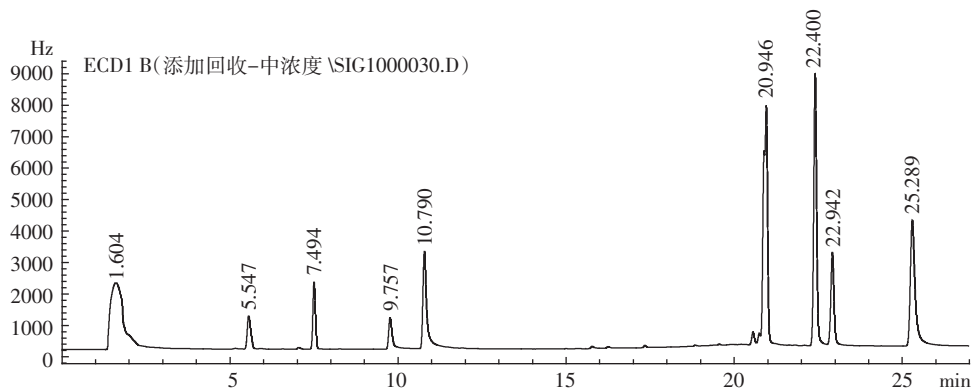


图 1 7 种农药的气相色谱图
Figure 1 The chromatogram of seven pesticides

表 1 7 种农药的线性回归方程及相关系数和检出限
Table 1 The liner range, correlation coefficient and limits of detection of seven pesticides

名称	线性范围/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	线性回归方程	相关 系数	检出限/ $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$
百菌清	0.05~1.0	$y=117\ 576.4x-2\ 324.27$	0.999 7	0.007
毒死蜱	0.05~1.0	$y=122\ 385.8x+166.95$	0.999 7	0.005
粉唑醇	0.5~10.0	$y=1\ 570.37x-253.17$	0.999 0	0.132
腈菌唑	0.5~10.0	$y=26\ 866.46x+1\ 262.51$	0.999 7	0.047
高效氯氰菊酯	0.5~10.0	$y=88\ 211.05x-14\ 448.9$	0.999 8	0.031
氰戊菊酯	0.5~10.0	$y=69\ 750.54x-6\ 331.19$	0.999 8	0.018
啉菌酯	0.5~10.0	$y=58\ 508.43x-9\ 035.30$	0.999 7	0.019

量标准的要求^[12]。

2.3 方法的准确度与精密度

取空白草莓样品,进行添加回收实验,每个浓度 3 个平行,添加浓度和回收实验结果见表 2。结果表明,7 种农药在草莓果实中的添加回收率在 85.3%~

102.7%之间,变异系数在 1.17%~3.66%之间。从样品谱图(图 2)看出,该方法对这几种农药有良好的分离效果。

3 讨论

3.1 色谱条件的确定

本实验所选的 7 种农药不是同一种类的化合物,其物理化学性质相差很大,为了能够顺利将其分离开且又不互相影响,笔者首先选用中等极性的毛细管 HP-5 气相色谱柱和对这几种农药均反应灵敏的 ECD 检测器,采用进样口高温(280 ℃),低初始柱温(170 ℃)及柱程序升温的方法,最终使得 7 种农药分离效果良好,峰形理想。

3.2 样品处理及净化方法的选择

草莓本身具有高含糖量和高色素含量,为了更好地消除糖及色素对检测结果的影响,作者采取加入乙腈和水混合提取的方法,草莓中的可溶性糖和色素可

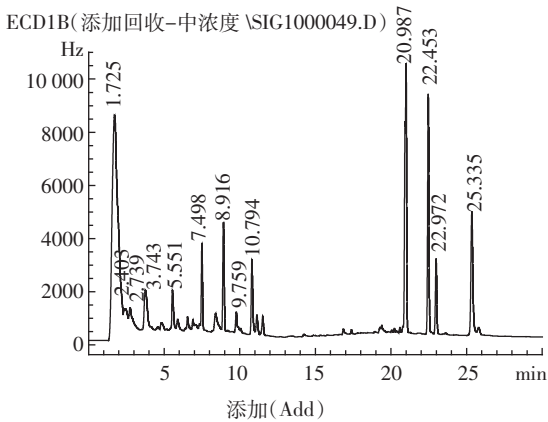
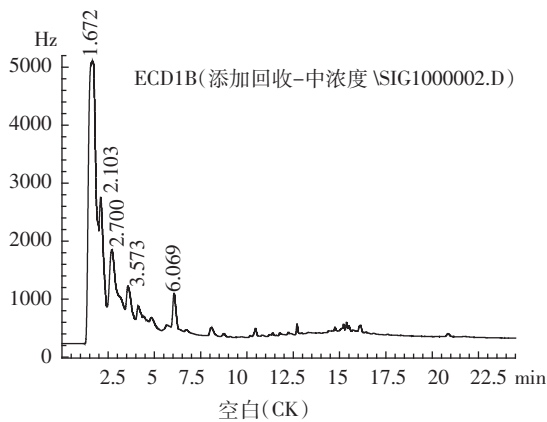


图 2 草莓样品空白及添加 7 种农药的气相色谱图
Figure 2 GC chromatograms of CK sample and added seven pesticides in strawberry

表 2 7 种农药在草莓中的添加回收实验结果
Table 2 The added recoveries of seven pesticides in strawberry

农药名称	添加水平/ mg·kg ⁻¹	回收率/%						变异系数/%
		1	2	3	4	5	平均	
百菌清	0.05	102.2	104.8	105.2	101.3	99.8	102.7	2.31
	0.1	99.2	101.1	98.4	97.8	100.5	99.4	1.39
	0.5	99.7	98.9	102	101.4	97.9	100.0	1.71
毒死蜱	0.05	99.8	103.2	102.1	100.5	104.5	102.0	1.92
	0.1	102.1	99.7	98.3	96.5	101.7	99.7	2.34
	0.5	90.2	98.4	97.6	95.1	99.3	96.1	3.66
粉唑醇	0.5	98.1	100.9	96.3	101.8	98.7	99.2	2.21
	1.0	97.9	99.4	95.5	98.6	94.8	97.2	2.00
	5.0	94.3	93.6	96.8	99.1	95.7	95.9	2.18
腈菌唑	0.5	104.1	98.2	97.2	101.2	99.4	100.0	2.72
	1.0	89.4	92.7	90.8	95.4	91.5	92.0	2.26
	5.0	82.9	86.8	84.6	87.9	84.3	85.3	2.02
高效氯氟菊酯	0.5	96.4	103.2	98.9	101.7	99.4	99.9	2.63
	1.0	101.4	99.1	100.2	98.3	99.7	99.7	1.17
	5.0	91.9	95.7	98.3	99.5	100.2	97.1	3.38
氰戊菊酯	0.5	104.4	98.7	102.4	101.8	99.4	101.3	2.31
	1.0	95.4	90.7	88.4	92.4	90.8	91.5	2.59
	5.0	88.2	90.7	94.3	95.6	92.4	92.2	2.93
啉菌酯	0.5	101.4	97.6	98.4	99.7	102.5	99.9	2.04
	1.0	98.0	103.4	95.6	96.9	100.5	98.9	3.10
	5.0	93.7	92.3	86.9	94.3	90.5	91.5	2.98

溶于水中而避免进入有机相影响检测。在净化过程中,分别采取正己烷、正己烷/丙酮(90:10)、正己烷/丙酮(80:20)及正己烷/丙酮(70:30)作为淋洗液分别进行淋洗,结果如图 3 显示。结果对比表明:用正己烷和正己烷/丙酮(90:10)淋洗时粉唑醇、腈菌唑和啉菌酯的回收率均低于 80%,而用正己烷/丙酮(80:20)和正己烷/丙酮(70:30)时效果较好,因此采用正己烷/丙酮(80:20)作为淋洗液进行实验。

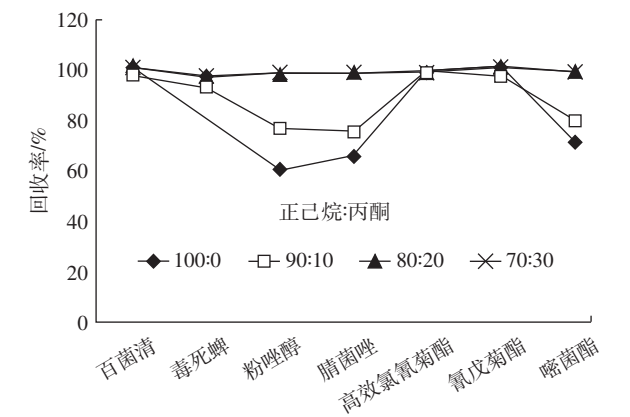


图 3 淋洗液的选择
Figure 3 The selection of eluent

3.3 固相萃取柱的选择
本文对 3 种固相萃取柱的柱回收率分别进行了测定。当添加浓度分别为: 百菌清和毒死蜱均为 0.1 μg·mL⁻¹, 粉唑醇、腈菌唑、高效氯氟菊酯、氰戊菊酯和啉菌酯均为 1.0 μg·mL⁻¹ 的混合标准溶液时, 7 种农药的回收结果见图 4。从图 4 可以看出, NH₂ 固相萃取柱对 7 种农药的回收率除了毒死蜱以外均低于 90%;

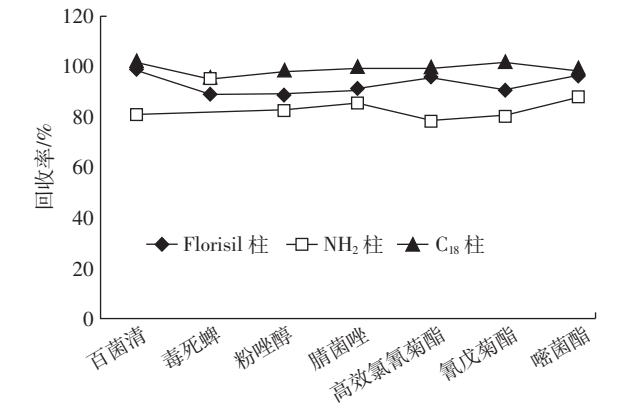


图 4 7 种农药在 3 种固相萃取柱中的回收实验结果
Figure 4 The recoveries of seven pesticides by Florisil, NH₂, C₁₈ solid-phase extraction column

Florisil 固相萃取柱对百菌清、高效氯氰菊酯和啉菌酯的回收率较好,但对其余 4 种农药的回收率较 C_{18} 固相萃取柱偏低; C_{18} 固相萃取柱对 7 种农药的回收率均在 90%~110%之间,结果较理想。从对 7 种农药整体回收率效果考虑,最后确定选用 C_{18} 固相萃取柱。

4 结论

本文建立了固相萃取-毛细柱气相色谱方法,可同时测定草莓中百菌清、毒死蜱、粉唑醇、腈菌唑、高效氯氰菊酯、氰戊菊酯和啉菌酯的残留量,此方法简便、快速、灵敏、准确,能满足国标中农药残留量测定的要求,且所测农药均为目前北京地区草莓中典型的残留农药,针对性和实用性强,为草莓中农药的残留检测及其标准的制定提供了有力参考。

参考文献:

- [1] Bolanos P P, Moreno J L, et al. Development and validation of a multiresidue method for the analysis of 151 pesticide residues in strawberry by gas chromatography coupled to a triple quadrupole mass analyzer[J]. *Rapid Commun Mass Spectrom*, 2007, 21(14):2282-2294.
- [2] Michael J Taylor¹, George A Keenan¹, Kirsty B Reid, et al. The utility of ultra-performance liquid chromatography/electrospray ionisation time-of-flight mass spectrometry for multi-residue determination of pesticides in strawberry[J]. *Rapid Commun Mass Spectrom*, 2008, 22(17):2731-2746.
- [3] Virginia C Fernandes, Valentina F Domingues, Nuno Mateus, et al. Organochlorine pesticide residues in strawberries from integrated pest management and organic farming[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2011, 59(14):7582-7591.
- [4] Liu Congyun, Wang Suli, Li Li, et al. Dissipation and residue of cyprodinil in strawberry and soil[J]. *Bull Environ Contam Toxicol*, 2011, 86(3):323-325.
- [5] 张志恒, 吴珉, 袁玉伟, 等. 百菌清、腈菌唑和吡唑醚菌酯在草莓中的残留及其风险评估[J]. *农药学报*, 2009, 11(4):449-455.
ZHANG Zhi-heng, WU Min, YUAN Yu-wei, et al. Residue and risk assessment of chlorothalonil, myclobutanil and pyraclostrobin in greenhouse strawberry[J]. *Chinese Journal of Pesticide Science*, 2009, 11(4):449-455.
- [6] 肖艺, 张志勇, 孙淑玲, 等. 百菌清在设施草莓上的残留[J]. *农药*, 2007, 46(8):540-550.
XIAO Yi, ZHANG Zhi-yong, SUN Shu-ling, et al. Residual dynamics of chlorothalonil on shed strawberry[J]. *Agrochemicals*, 2007, 46(8):540-550.
- [7] 郑志琴, 魏朝俊, 赵建庄, 等. 多菌灵在草莓与土壤中的残留动态研究[J]. *农业环境科学学报*, 2010, 29(10):1948-1952.
ZHENG Zhi-qin, WEI Chao-jun, ZHAO Jian-zhuang, et al. Residue dynamics of carbendazim in strawberry and soil[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2010, 29(10):1948-1952.
- [8] 戴荣彩, 陈莉, 夏福利, 等. 四氟醚唑在草莓和土壤中的残留动态研究[J]. *农药学报*, 2005, 7(2):185-188.
DAI Rong-cai, CHEN Li, XIA Fu-li, et al. Study on residue dynamics of tetraconazole in strawberry and soil[J]. *Chinese Journal of Pesticide Science*, 2005, 7(2):185-188.
- [9] 李辉, 张玉婷, 郭永泽. 醚菌酯 50%干悬浮剂在草莓及土壤中的残留动态研究[J]. *安徽农业科学*, 2009, 37(20):9596-9597.
LI Hui, ZHANG Yu-ting, GUO Yong-ze. Residual dynamics of dry 50% kresoxin-methyl suspending agent in strawberry and soil[J]. *Journal of Anhui Agricultural Science*, 2009, 37(20):9596-9597.
- [10] 秦冬梅. 克菌丹 50%可湿性粉剂在草莓和土壤中的残留动态研究[J]. *农业环境科学学报*, 2008, 27(5):2048-2051.
QIN Dong-mei. Residue dynamics of captan in strawberry and soil[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2008, 27(5):2048-2051.
- [11] 李润岩, 原现瑞, 李挥, 等. 顶空固相微萃取-气质联用快速测定草莓中 5 种有机磷农药[J]. *食品科学*, 2009, 30(14):191-193.
LI Run-yan, YUAN Xian-rui, LI Hui, et al. Headspace solid-phase microextraction and gas chromatography-mass spectrometry for the rapid detection of 5 organophosphorus pesticide residues in strawberries[J]. *Food Science*, 2009, 30(14):191-193.
- [12] 潘灿平. 最新农药残留限量标准手册 [M]. 北京: 中国计量出版社, 2006:311-314.
PAN Can-ping. The latest standard manual of pesticide residue limits[M]. Beijing: China Metrology Publishing House, 2006:311-314.