

动物性食品中有机氯农药多残留测定方法研究

卓黎阳¹ 陈惠京² 周蕊² 赵云峰² 吴永宁^{2*} 曾凡刚¹

(1 中国人民大学环境学院, 北京 100872)

(2 中国疾病预防控制中心营养与食品安全所, 北京 100050)

摘 要: 本文以GB/T5009.162-2003国标方法为基础, 采用全自动凝胶色谱系统(GPC)净化, 对动物性食品肉、蛋、奶中26种有机氯农药多残留进行分析, 在给定的浓度范围内, 各农药组分呈现良好的线性相关, 进一步拓展了国家标准方法的检测能力。

关键词: 有机氯农药多残留、凝胶色谱净化、气相色谱法

尽管我国于1983年停止有机氯农药的生产和使用, 但是由于过去长达30年的使用历史, 再加上有机氯农药的化学性质稳定, 在环境中难以降解, 这使得环境中仍存在有机氯农药残留, 并通过食物链的富集作用, 造成对食品的危害。2000年中国总膳食研究结果显示, HCH和DDT仍是我国膳食中农药残留的主要监测品种。为加强持久性有机污染物的监测与控制, 我国也于2004年6月通过了《关于持久性有机污染物的斯德哥尔摩公约》(以下简称《公约》)。《公约》中公布的12种持久性有机污染物中有机氯杀虫剂就有7种, 包括了艾氏剂、氯丹、滴滴涕、异狄氏剂、七氯、灭蚁灵、毒杀芬。这其中有些是在我国登记但未曾使用过的品种, CAC已制定其限量标准。为加强我国食品的监测能力, 保护消费者健康, 有必要建立能覆盖多组分的检测方法。本文在国家标准方法

(GB/T5009.162-2003)的基础上增加了氯丹、硫丹和异狄氏剂等的异构体组分, 并采用全自动凝胶渗透色谱(GPC)系统进行样品的净化处理, 提升分析速度, 进一步提高GB/T5009.162-2003的检测灵敏度, 从而为我国开展禁用有机氯农药再残留限量标准的研究提供良好的技术保证。

1 材料与方法

1.1 仪器

Varian 气相色谱仪(CP3800, CP8400 自动进样器, 具电子捕获检测器); 旋转蒸发仪(Rotary Evaporator N-1000, Eyela 公司); AccuPrepTM 自动凝胶色谱系统(GPC, 美国 J2 Scientific 公司), 264 nm 固定波长紫外检测器。

1.2 试剂

丙酮（分析纯，重蒸）；石油醚（沸程：30～60℃，分析纯，重蒸）；乙酸乙酯（分析纯，重蒸）；环己烷（分析纯，重蒸）；正己烷（农残级，J.T.Baker公司）；氯化钠（分析纯）；无水硫酸钠（分析纯）；氮气（≥99.5%，北京普莱克斯实用气体有限公司）。

1.3 农药标准品及标准溶液

26种有机氯农药标准品（纯度>99%）。标准溶液的配制：准确称取各农药标准品，用少量苯溶解，再以正己烷稀释成一定浓度的储备溶液。量取适量标准储备溶液，以正己烷稀释为系列混合标准溶液。

1.4 样品制备

1.4.1 样品预处理：蛋品去壳，制成匀浆；鱼肉去骨刺，制成鱼肉糜；乳品混匀。

1.4.2 提取

1.4.2.1 称取蛋类样品 20 g(精确到 0.01 g)，于 200 mL 具塞三角瓶中，加水 5 mL，加 40 mL 丙酮，振摇 30 min，加氯化钠 6 g，充分摇匀，再加 30 mL 石油醚，振摇 30 min。静置分层后，将有机相全部转移至 100 mL 具塞三角瓶中经无水硫酸钠干燥过夜，取 35 mL 上清液于旋转蒸发瓶中，浓缩至约 1 mL，加 2 mL 乙酸乙酯—环己烷（1:1，V/V）溶液再浓缩，如此重复 3 次，浓缩至约 1 mL 并转移至 GPC 自动进样系统配套试管中，用乙酸乙酯—环己烷（1:1，V/V）溶液洗涤旋转蒸发瓶数次，将洗涤液合并至试管中并定容至 10 mL。

1.4.2.2 称取鱼肉样品 20.0 g（精确到 0.01 g），加水 15 mL。加 40 mL 丙酮，振摇 30 min，其后的提取方法同 1.4.2.1 蛋类样品的提取步骤。

1.4.2.3 称取牛奶样品 20.0 g（精确到 0.01 g），直接加 40 mL 丙酮，振摇 30 min，其后的提取方法同 1.4.2.1 蛋类样品的提取步骤。

1.4.3 净化

样品通过 5 mL 样品环注入 GPC 柱，泵流速 5.0 mL/min，弃去 0～7.5 min 流

分，收集 7.5 ~ 15min 流分，15 ~ 20 min 冲洗 GPC 柱。洗脱液为乙酸乙酯—环己烷（1:1，V/V）混合溶液。将收集的流分旋转蒸发浓缩至约 1 mL，用氮气吹至近干，以正己烷定容至 1 mL，待 GC 分析。

1.5 色谱条件

色谱柱：DM-5 石英弹性毛细管柱，30 m×0.32 mm×0.26 μm。柱温：程序升温为 90 °C, 1min $\xrightarrow{40^{\circ}\text{C}/\text{min}}$ 170 °C $\xrightarrow{2.3^{\circ}\text{C}/\text{min}}$ 230 °C, 17min $\xrightarrow{40^{\circ}\text{C}/\text{min}}$ 280 °C, 5min。进样口温度 280 °C。检测器温度 300 °C。载气流速 N₂：流速 1mL/min，柱前压 0.5 MPa。不分流进样，进样量 1 μL。

2 结果

2.1 GPC 淋洗曲线

样品运行前，须对 J2 Scientific 公司的 GPC AccuPrep™ 自动凝胶色谱系统（GPC）的淋洗条件进行选择。采用推荐流速 5.0 mL/min 洗脱，以紫外检测器检测 26 种有机氯农药的流出时间以确定组分收集。

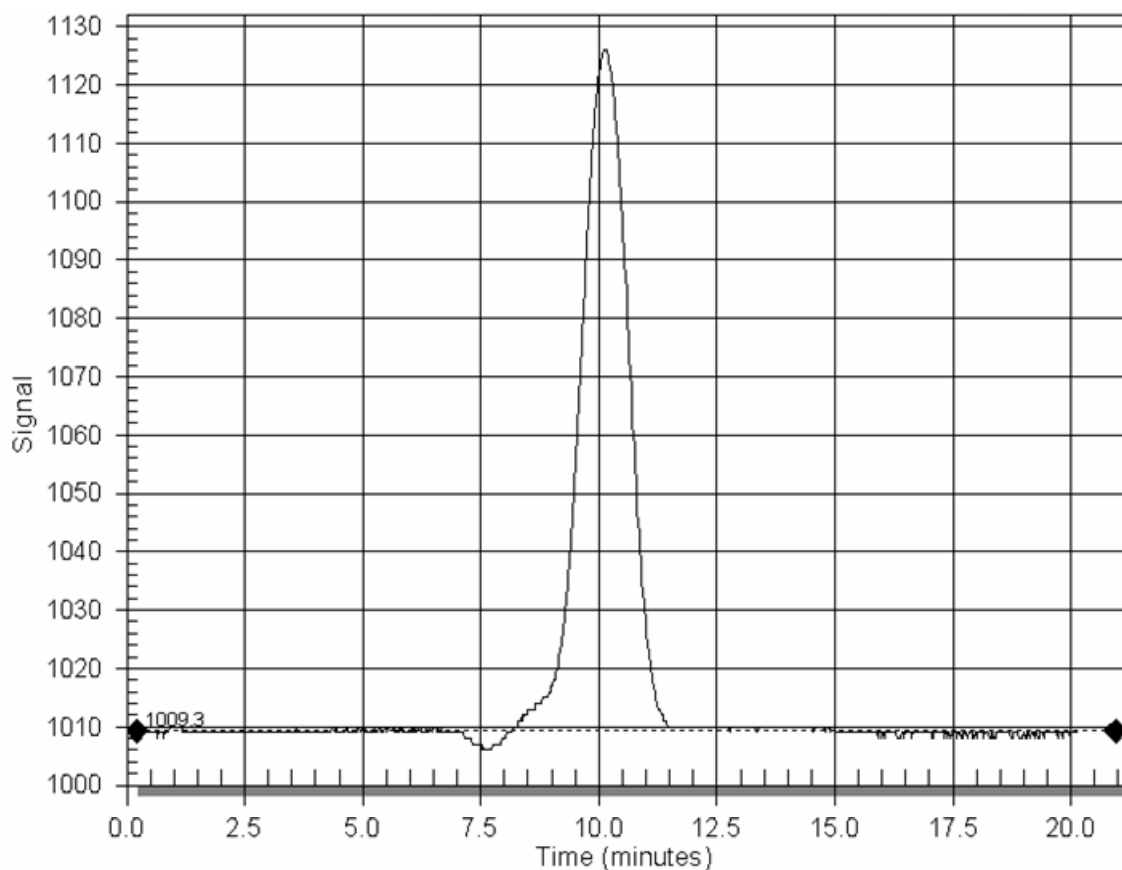


图 1 有机氯农药混标的紫外吸收图

由紫外吸收图可见，有机氯农药混标溶液的流出时间在 7.5 ~ 12.5 min 之间。在溶剂洗脱条件下，以混标溶液进样，由表 1 结果可见，在 7.5 ~ 15 min 收集，除添加水平 2 中六氯苯的回收率为 81.35%，异狄氏剂醛 76.46%外，其他各组分的回收率均大于 90%，以此确定了本方法的洗脱曲线。

表 1. GPC 净化的回收试验结果

编号	农药组分	加标水平 1			加标水平 2		
		添加量 ($\mu\text{g/L}$)	平均回收率 (%)	RSD% (n=7)	添加量 (ng/mL)	平均回收率 (%)	RSD% (n=7)
1	α -六六六	1.20	99.97	5.88	6.00	95.17	5.47
2	六氯苯	1.56	100.60	3.08	7.80	81.35	3.55
3	β -六六六	3.80	98.53	5.90	19.00	90.48	6.15
4	γ -六六六	1.50	100.88	7.47	7.50	98.32	4.04
5	五氯硝基苯	2.02	99.77	9.21	10.08	92.76	7.18
6	δ -六六六	1.50	99.16	9.11	7.50	95.66	2.80
7	五氯苯胺	2.20	99.98	8.89	11.00	103.28	3.51

8	七氯	2.02	102.60	1.65	10.10	103.34	1.87
9	五氯苯酚	1.20	101.18	8.84	6.00	99.94	3.79
10	艾氏剂	2.16	100.19	7.84	10.80	95.13	6.64
11	氧氯丹	3.00	101.08	7.51	15.00	100.21	4.83
12	环氧七氯	2.42	101.34	8.05	12.12	100.66	5.46
13	反氯丹	2.40	101.86	8.96	12.00	98.79	5.48
14	α -硫丹	3.20	101.32	8.34	16.00	100.69	5.37
15	顺氯丹	2.40	101.28	8.32	12.00	100.19	5.64
16	p,p'-DDE	3.78	101.38	8.82	18.88	103.48	6.38
17	狄氏剂	2.50	102.03	9.06	12.50	101.06	5.39
18	异狄氏剂	5.32	105.07	4.96	26.60	110.71	7.81
19	β -硫丹	4.00	101.80	9.47	20.00	100.16	5.71
20	p,p'-DDD	4.20	100.27	8.11	21.00	98.70	4.28
21	o,p'-DDT	6.00	103.37	9.72	30.00	106.37	6.86
22	异狄氏剂醛	2.40	99.03	10.83	12.00	76.46	10.13
23	硫丹硫酸盐	5.20	101.30	6.27	26.00	96.75	5.27
24	p,p'-DDT	4.50	104.03	5.27	22.50	101.49	8.37
25	异狄氏剂酮	2.00	99.52	4.72	10.00	94.83	5.08
26	灭蚁灵	2.00	98.37	2.85	10.00	100.23	1.02

2.2 色谱图

采用 1.5 的色谱条件可以得到有机氯农药混标的 GC 色谱图，如图 2。

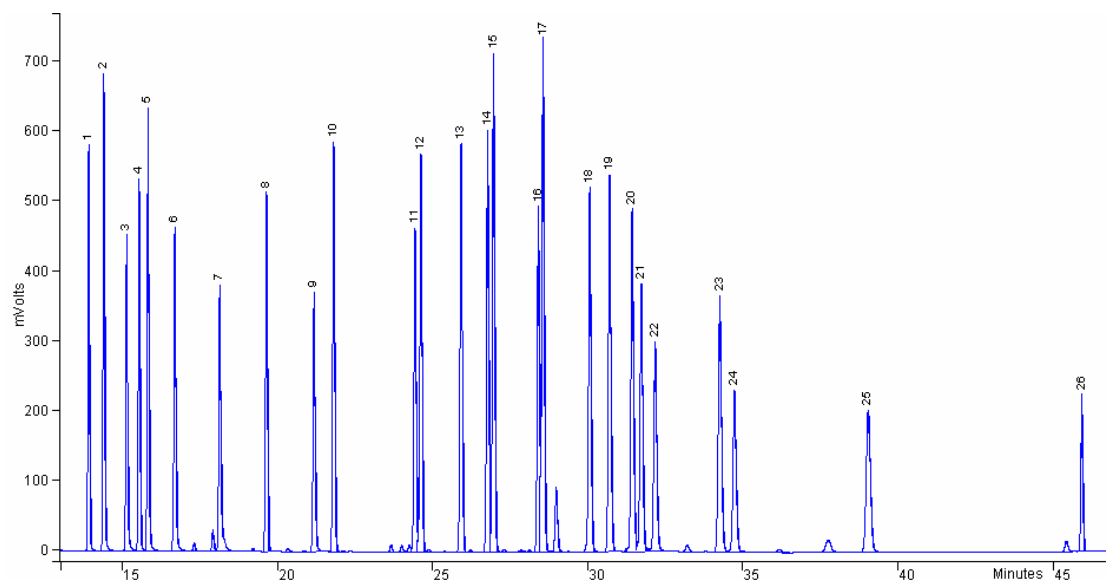


图2 有机氯农药混标溶液的 GC 色谱图

出峰顺序 1. α -六六六 2.六氯苯 3. β -六六六 4. γ -六六六 5.PCNB 6. δ -六六六 7.PCA 8.七氯
9.PCPs 10.艾氏剂 11.氧氯丹 12.环氧七氯 13.反氯丹 14. α -硫丹 15.顺氯丹 16.p,p'-DDE
17.狄氏剂 18.异狄氏剂 19. β -硫丹 20.p,p'-DDD 21.o,p'-DDT 22.异狄氏剂醛 23.硫丹硫酸盐

24.p,p'-DDT 25.异狄氏剂酮 26.灭蚁灵

2.3 检测限与定量限试验

将最低浓度水平的混标溶液添加在鸡蛋、鱼肉、牛奶中，以各目标组分的 3 倍平均信噪比为检测限 (limit of detection, LOD)，10 倍平均信噪比为定量限 (limit of quantification, LOQ)，获得该方法的 LOD 及 LOQ，结果见表 4。

表 4 检出限和定量限的试验结果（单位：μg/kg）

农药	LOD			LOQ		
	鸡蛋	鱼	牛奶	鸡蛋	鱼	牛奶
α-六六六	0.053	0.039	0.050	0.177	0.129	0.166
六氯苯	0.060	0.030	0.056	0.201	0.100	0.188
β-六六六	0.179	0.179	0.082	0.597	0.597	0.275
γ-六六六	0.096	0.064	0.042	0.319	0.213	0.141
五氯硝基苯	0.114	0.040	0.050	0.381	0.135	0.168
δ-六六六	0.161	0.038	0.199	0.536	0.126	0.662
五氯苯胺	0.291	0.139	0.153	0.971	0.462	0.508
七氯	0.053	0.027	0.043	0.176	0.090	0.143
五氯苯酚	0.082	0.131	0.065	0.275	0.437	0.215
艾氏剂	0.087	0.138	0.099	0.289	0.461	0.330
氧氯丹	0.126	0.187	0.086	0.421	0.622	0.285
环氧七氯	0.089	0.132	0.060	0.297	0.439	0.201
反氯丹	0.094	0.048	0.054	0.315	0.161	0.179
α-硫丹	0.191	0.060	0.092	0.637	0.201	0.306
顺氯丹	0.066	0.040	0.058	0.220	0.134	0.192
p,p'-DDE	0.174	0.126	0.152	0.579	0.421	0.506
狄氏剂	0.101	0.050	0.061	0.336	0.168	0.202
异狄氏剂	0.481	0.101	0.431	1.603	0.336	1.435
β-硫丹	0.080	0.063	0.121	0.267	0.210	0.405
p,p'-DDD	0.151	0.211	0.230	0.505	0.703	0.766
o,p'-DDT	0.048	0.156	0.060	0.160	0.519	0.200
异狄氏剂醛	0.072	0.078	0.078	0.239	0.269	0.269
硫丹硫酸盐	0.467	0.200	0.474	1.556	0.667	1.578
p,p'-DDT	0.461	0.198	0.119	1.536	0.658	0.395
异狄氏剂酮	0.222	0.041	0.070	0.740	0.136	0.235
灭蚁灵	0.100	0.050	0.060	0.333	0.167	0.200

2.6 准确度试验

选择鸡蛋为基质，进行多次重复测定，得到样品的背景值。在基质中，分别添加两个水平的混标溶液，按给定方法平行测定 7 次，结果见表 5。

表 5 加标回收试验结果

农药	添加水平 ($\mu\text{g/kg}$)	鸡蛋		添加水平 ($\mu\text{g/kg}$)	鸡蛋	
		平均值 (%)	RSD%		平均值 (%)	RSD%
α -六六六	1.500	102.71	6.57	6.00	104.26	3.04
六氯苯	1.950	99.15	4.64	7.80	100.82	5.24
β -六六六	4.750	88.38	7.36	19.00	86.89	2.76
γ -六六六	1.875	104.99	5.38	7.50	109.87	3.22
五氯硝基苯	2.520	85.62	4.77	10.08	95.71	2.53
δ -六六六	1.875	101.56	8.75	7.50	91.10	3.75
五氯苯胺	2.750	95.50	5.01	11.00	94.95	4.69
七氯	2.526	99.64	9.04	10.10	103.23	3.40
五氯苯酚	1.500	88.41	6.67	6.00	92.08	4.55
艾氏剂	2.70	89.00	9.91	10.80	87.10	5.22
氧氯丹	3.750	70.67	6.60	15.00	71.35	3.96
环氧七氯	3.030	75.16	6.92	12.12	76.69	2.98
反氯丹	3.000	74.43	6.70	12.00	67.24	4.65
α -硫丹	4.000	82.48	6.37	16.00	86.40	3.11
顺氯丹	3.000	76.20	8.94	12.00	68.13	5.30
p,p'-DDE	4.720	92.09	8.14	18.88	81.15	7.92
狄氏剂	3.126	86.38	7.22	12.50	88.85	4.16
异狄氏剂	6.650	103.44	6.43	26.60	100.69	2.69
β -硫丹	5.000	100.71	5.96	20.00	105.43	3.46
p,p'-DDD	5.260	106.24	7.32	21.00	101.26	3.50
o,p'-DDT	7.500	90.70	6.42	30.00	99.05	4.52
异狄氏剂醛	3.000	40.23	3.26	12.00	38.51	6.53
硫丹硫酸盐	6.500	101.54	8.61	26.00	84.82	3.61
p,p'-DDT	5.626	109.97	7.50	22.50	101.22	6.19
异狄氏剂酮	2.500	92.92	8.27	10.00	86.54	4.20

3 讨论

3.1 由 2.6 试验结果可以看出, 氯丹类农药, 包括氧氯丹、环氧七氯、反氯丹和顺氯丹在鸡蛋中的回收只有 67.24%~76.69%, 异狄氏剂醛在鸡蛋中的回收也只有 40.23%和 38.51%, 这是因为鸡蛋这种基质比较复杂。异狄氏剂醛在鱼和牛奶中的回收比鸡蛋高, 但也只有 54.71%~66.38%, 这可能是因为异狄氏剂醛本身易分解, 在前处理中有损失。

3.2 本方法所采用的 GPC 法在农残检测中有着广泛的应用。GPC 法的柱填料 Bio-Beads SX-3 和被分离试样没有相互作用, 完全靠分子大小进行分离, 这就使得 GPC 技术可在温和条件下进行。因为没有可逆吸附, 所以每个适用于 GPC 分离的样品都能完全洗脱。Griffitt 和 Craun 对自动化的 GPC 系统进行了验证, 发现用 GPC 法分离所得回收率比用液-液萃取法(乙酸乙酯-石油醚分配法)和柱层析法(如 Florisil 分离法)所得回收率要好得多。Armishaw 等人研究表明相对于 Sweep codistillation 和 Florisil 柱色谱来讲, GPC 有自动化程度高、重现性好等特点。而 GPC 净化法和 alumina 柱层析法相比, GPC 可去除大分子干扰物, 能够适用于更多种复杂基质。因此, GPC 可以从不同的基质, 如含油脂食品、动物脂肪、蔬菜、水果、肉、蛋、奶、鱼等中有效地分离出农药, 如有机氯农药、拟除虫菊酯类、有机磷、氨基甲酸酯等。

4 小结

与传统的重力 GPC 色谱层析净化技术相比, 全自动的 GPC 系统方法规范、净化效率高、操作简单, 结果准确可靠。对国标方法改进后, 大部分农药的回收率在 80%~115%间, 且 RSD%全部小于 10%, 完全可以满足多残留农残检测的要求。所采用 DM-5 弹性石英毛细管柱可在 53 min 内完成 26 种有机氯农药多组分测定, 提高了分析效率。