

GC-MS 法高灵敏检测蔬菜中氨基甲酸酯农药残留

王俊,管有志,于微,谭洪兴,朱李佳,刘小立*

摘要 :目的 建立使用气质联用法同时检测蔬菜中多种氨基甲酸酯快速灵敏的检测方法。方法 样品经乙腈提取,固相萃取柱净化,并建立一种快速测定蔬菜中 6 种氨基甲酸酯类农药残留(异丙威、仲丁威、残杀威、抗芽威、速灭威、甲奈威)的气相色谱质谱联用(GC-MS)检测方法。同时对 22 种蔬菜中的多种氨基甲酸酯类农药进行定性及定量分析。结果 建立一种快速测定蔬菜中 6 种氨基甲酸酯类农药残留的 GC-MS 方法,该方法对 6 种氨基甲酸酯类农药的相对标准偏差为 1.06%~3.73%,回收率为 86.5%~112.3%,并具有较好的精密度。在应用该方法检测的 22 种蔬菜中,一份空心菜检测出残杀威,一份香菜中检测出异丙威。结论 本文建立的快速测定蔬菜中 6 种氨基甲酸酯类农药的 GC-MS 方法准确可靠,灵敏度高,可应用于蔬菜中多种氨基甲酸酯农药的同时测定。

关键字 :气质联用;氨基甲酸酯;农药残留;蔬菜

中图分类号 :R155.5+4 文献标识码 :A 文章编号 :1009-9727(2013)2-189-03

Detection of pesticides residues of carbamate in vegetables by GC-MS. WANG Jun, ZENG GUAN You-zhi, YU Wei, et al. (Physicochemical Laboratory of Shenzhen Municipal Chronic Disease Center, Shenzhen 518020, Guangdong, P. R. China; Corresponding author: LIU Xiao-li, E-mail: junwangwh96@gmail.com)

Abstract :Objective To set up a reliable method for determination of six carbamates in vegetables by using GC-MS. Methods Samples were extracted with acetonitrile and then purified by solid-phase extraction (SPE). A method on rapid detection of six carbamates (Isoprocab, BPMC, Propoxur, Pirimicarb, MTMC, Carbaryl) in samples by GC-MS has been established. Qualitative and quantitative analysis of pesticide residues in 22 vegetables from local supermarket have been performed by the proposed method. Results The relative standard deviations of the method were between 1.06% and 3.73%, and the method recoveries were in the range of 86.5-112.3% with good precision. Propoxur in water spinach and Isoprocab in caraway have positive test results in our experiments. Conclusions The method was highly sensitive with satisfied recovery and it could be applied to detect six carbamates residues in vegetables quickly and accurately.

Key words :GC-MS; Carbamates; Pesticide residues; Vegetables

氨基甲酸酯类农药是近年来研制的一类新型有机合成农药,因其高效、低毒、低残留的特点而在农业生产中广泛应用,其年使用量逐年增加,与此同时产生的农药残留问题已引起人们的广泛关注^[1,2]。由于蔬菜中基质成分复杂,仅使用传统液液萃取方法,有机试剂耗量大、后续净化处理效果差、本底干扰大等缺点。采用 HPLC 方法和气相色谱法难以准确定量^[3,4]。本文对样本前处理步骤进行了优化,待测样品经超声萃取后,采用氨基固相萃取柱进行净化,建立了一种快速测定蔬菜中 6 种氨基甲酸酯类农药残留(异丙威、仲丁威、残杀威、抗芽威、速灭威、甲奈威)的 GC-MS 法。该方法操作简便,灵敏度高,结果准确可靠,可以用于蔬菜中氨基甲酸酯类农药痕量残留的检测。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂 气相色谱仪-质谱联用仪

(Agilent 7890A-5975C), XR125SM 电子天平(瑞士 Precisa 公司,量程 0.1mg-210g), KS260 振荡摇床(广州仪科实验室技术有限公司), MTN-2800D 氮吹仪(天津奥特塞恩斯仪器公司), A10 粉碎机(广州仪科实验室技术有限公司), 3K15 低温高速离心机(德国 Sigma 公司), RapidTrace 全自动固相萃取仪(美国 Caliper Life Sciences 公司), Bond Elut 氨基固相萃取柱(500mg, 3ml, 美国 Varian 公司), 乙腈(农残纯度, 德国 Merck), 丙酮(HPLC 纯度, 德国 Merck), 正己烷(HPLC 纯度, 德国 Merck), 二氯甲烷(HPLC 纯度, 德国 Merck), 氯化钠(分析纯, 德国 Merck), 异丙威(Isoprocab)、仲丁威(BPMC)、残杀威(Propoxur)、抗芽威(Pirimicarb)、速灭威(MTMC)、甲奈威(Carbaryl) 6 种农药标准品均购自于 Dr. Ehrenstorfer 公司, 纯度均 ≥ 99%。

基金项目:深圳市食品安全委员会资助项目(No. SZSAW2010004)

作者单位:深圳市慢性病防治中心理化实验室,广东 深圳 518020

作者简介:王俊(1978-),男,安徽,博士,副主任技师,研究方向:食品安全与营养、慢性病防治。

* 通讯作者: E-mail: junwangwh96@gmail.com。

1.2 标准溶液的配制 准确称取 (精确至 0.0001g) 一定量的农药标准品用丙酮溶解, 配制成 10 μ g/ml 混合标准储备液 然后用丙酮然后用丙酮逐级稀释配置成浓度为 0.02 μ g/ml、0.05 μ g/ml、0.20 μ g/ml、0.50 μ g/ml、1.0 μ g/ml、2.0 μ g/ml 的混合标准溶液。

1.3 样品的提取与净化 取不少于 1000g 蔬菜样品的可食部分 放入粉碎机内加工均匀浆状 再准确称取 10.0g 放入 50ml 离心管中 加入 25.0ml 乙腈 在振荡器上高速振荡提取 10min, 静置分层后洗出提取液 在重复提取 1 次 合并提取液 加入氯化钠 10.0g, 剧烈振荡 2min, 在室温下静置 10min, 使乙腈相和水相分层。取 10.0ml 乙腈溶液在氮吹仪蒸发至近干 加入 2.0ml 丙酮 溶解残渣。以正己烷润洗氨基固相萃取柱 再将上述样品的丙酮溶液过柱 用正己烷淋洗, 再用甲醇 - 二氯甲烷溶液 (5:95, v/v) 洗脱 收集洗脱液于 10ml 比色管中 氮吹近干 用丙酮定容至 1ml, 涡旋 30s 5000rpm 速度下离心 10min 取上液样于进样瓶中 待上机检测。

1.4 色谱条件与检测方法 色谱柱 :DB-5 (30m \times 0.25mm \times 0.25 μ m, J&W 公司), 柱温箱升温程序 起始温度 95 $^{\circ}$ C, 保持 3min, 以 20 $^{\circ}$ C/min 的速率升温至 190 $^{\circ}$ C 保持 3min 再以 10 $^{\circ}$ C/min 的速率升温至 240 $^{\circ}$ C, 保持 5min; 载气 :高纯氮气, 纯度 \geq 99.999%, 气体流速 :1.0ml/min, 进样口温度 230 $^{\circ}$ C, 进样量 1.0 μ l, 进样方式 :无分流进样, 溶剂延迟时间 :6min; EI 离子源 接口温度 280 $^{\circ}$ C。为了准确定性和定量检测 先采用 SCAN 模式确定 6 种氨基甲酸酯类农药标准品的保留时间 再采用 SIM 模式进行定量测定 提高检测的灵敏度。每组所有需要检测的化合物按照保留时间的先后顺序 分时段分别检测并用峰面积定量。6 种化合物的保留时间、定量离子、定性离子见下表 1。

表 1 6 种氨基甲酸酯类农药特征离子的选择
Table 1 Feature ion choice of 6 carbamate pesticides

农药名称 Pesticide	保留时间 Retention time, min	定量离子 Quantitative ion	定性离子 Qualitative ion
速灭威 MTMC	7.836	108	77, 107, 109
异丙威 Isoprocarb	8.428	121	91, 103, 136
仲丁威 BPMC	9.014	121	91, 150, 122
残杀威 Propoxur	9.038	110	81, 110, 152
抗蚜威 Pirimicarb	11.890	166	72, 138, 238
甲萘威 Carbaryl	12.573	144	115, 116, 201

2 结果

2.1 色谱条件的优化 由于农药残留检测浓度较低 故采用不分流进样方式。为保证各农药组分有良好的分离, 并且使检测短时间内完成, 本方法采用 DB-5 色谱柱 程序升温起始温度 95 $^{\circ}$ C, 保持 3min, 以

20 $^{\circ}$ C/min 的速率升温至 190 $^{\circ}$ C, 保持 3min, 再以 10 $^{\circ}$ C/min 的速率升温至 240 $^{\circ}$ C, 保持 5min, 待测化合物可以在 13 分钟内得到有效的分离 (见图一)。其中仲丁威和残杀威由于结构相似, 极性相近, TIC 模式下色谱峰无法有效分离, 但在 SIM 模式下通过特征离子碎片的选择 (仲丁威 :121; 残杀威 :110), 可以实现有效分离和定量。

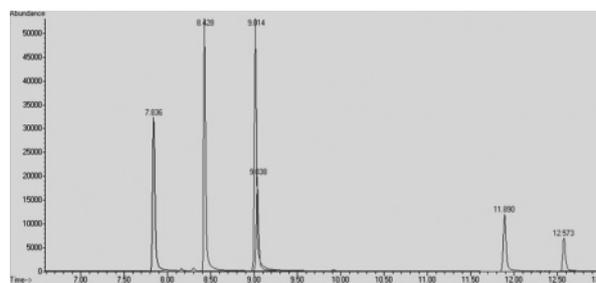


图 1 6 种氨基甲酸酯农药的标准色谱图

Fig 1 standard chromatogram of 6 carbamate pesticides

2.2 样品前处理的优化 由于蔬菜中基质成分复杂 含有较多的色素和有机酸 在进行前处理时 如果采用传统的液液萃取 试剂耗量大、前处理时间长、后续净化处理效果差、杂质干扰严重 回收率偏低 (一般小于 50%)。本实验通过摸索 选择氨基固相萃取柱进行净化浓缩 以甲醇 - 二氯甲烷溶液洗脱 回收率可达 85.4%~104.5%。

2.3 标准曲线与检出限 本实验采用外标法, 配制一系列浓度的混合标准溶液 (0.02 μ g/ml、0.05 μ g/ml、0.20 μ g/ml、0.50 μ g/ml、1.0 μ g/ml、2.0 μ g/ml) 各取 1 μ l 进样, 以峰面积为 (Y) 纵坐标 浓度为 (X) 横坐标绘制标准曲线 计算回归方程。按取 25.0 克样品测定计算 以 3 倍信噪比 (S/N) 表示方法的检出限。

2.4 精密度 按上述的色谱检测条件, 配制浓度分别为低、中、高三种浓度 (0.02、0.2、2.0 μ g/ml) 的氨基甲酸酯混合标准溶液, 重复检测 6 次 6 种氨基甲酸酯农药的相对标准偏差分别为速灭威 1.57%~2.19%、异丙威 2.15%~2.70%、仲丁威 1.06%~3.14%、残杀威 2.45%~2.79%、抗蚜威 1.58%~3.73%、甲萘威 2.47%~3.67%。

2.5 回收率 在无氨基甲酸酯农药的蔬菜样品中, 分别添加低、中、高三种浓度的氨基甲酸酯农药混合标准溶液 依据上述前处理和检测方法 测得样品的回收率在 86.5%~112.3%。

2.6 应用 应用本研究建立的快速检测蔬菜中 6 种氨基甲酸酯类农药的 GC-MS 方法, 对本地超市中随机采集的 22 种蔬菜中的异丙威、仲丁威、残杀威、抗蚜威、速灭威、甲萘威 6 种农药进行检测 在一份空心菜检测出残杀威 其浓度为 0.048 mg/kg, 一份香菜中

表 2 标准曲线与检出限
Table 2 Standard curve and detection limit

农药名称 Pesticide	回归曲线 Regression curve	线性范围 Range of Linearity μ g/ml	相关系数 Related coefficient	检出限 Detection limit μ g/kg
速灭威 MTMC	Y=67816X- 2560	0.02- 2.0	0.997	0.27
异丙威 Isoprocarb	Y=91646X- 3178	0.02- 2.0	0.998	0.21
仲丁威 BPMC	Y=95932X- 3275	0.02- 2.0	0.998	0.26
残杀威 Propoxur	Y=40308X- 1430	0.02- 2.0	0.997	0.85
抗蚜威 Pirimicarb	Y=32306X- 1549	0.02- 2.0	0.996	0.43
甲萘威 Carbaryl	Y=18074X- 778	0.02- 2.0	0.997	0.38

检测出异丙威,浓度为 0.216 mg/kg,其它样品中氨基甲酸酯类农药残留均低于方法检出限。

3 讨论

本文利用氨基固相萃取法萃取蔬菜中的氨基甲酸酯类农药,避免了传统液液萃取法造成的后续净化处理效果差、基体干扰大等缺点。并且采用气相色谱质谱联用的方法对氨基甲酸酯类农药进行定量,建立了同时检测蔬菜中 6 种氨基甲酸酯类农药残留的分析方法。该方法选择性好、分辨率高、灵敏度高,完全符合国标分析要求^[9],过程具有简单、快速的特点。应用本方法对超市中购买的 22 份蔬菜中 6 种氨基甲酸酯类农药进行测定,在一份空心菜检测出残杀威,其浓度为 0.048mg/kg,一份香菜中检测出异丙威,浓度为 0.216mg/kg。依据食品中农药最大残留限量(GB 2763-2005)^[9]中规定,蔬菜中异丙威的最大残留量为 0.5mg/kg,而利用本研究建立的方法,可准确测定香菜中浓度仅为 0.216mg/kg 的异丙威,可见本研究所建立的方法具有较高的分辨率和灵敏度,优于国际标准对农残分析的要求。改革开放以来,深圳市经济得到了较快的发展,已基本实现了全市城镇化,全市的农产品不能自给自足,超市中所售蔬菜基本需要外地采购。通过本次对市内超市中蔬菜随机抽样的检测结果分析,本地所售蔬菜的农药残留均符合要求。

参考文献:

[1] Zhong YT, Chen CX, Kang L. Determination of Carbamate Pesticides in Vegetable by Gas Chromatography-Mass Spectrometry [J]. Occupat Hlth, 2010, 26(3): 280-281. (In Chinese)
(仲岳桐, 陈春晓, 康莉. 蔬菜中氨基甲酸酯类农药的气相色谱质谱联用检测法[J]. 职业与健康, 2010, 26(3): 280-281.)

[2] Hang N. Research on detection method of pesticides residues of organic phosphorus and carbamate in vegetables and fruits [J]. Occupat Hlth, 2012, 28(4): 430-434. (In Chinese)
(郝宁. 蔬菜水果中 16 种有机磷和氨基甲酸酯农药残留检测方法研究[J]. 职业与健康, 2012, 28(4): 430-434.)

[3] Determination of carbamate pesticides multiresidues in animal foods (HPLC) [S]. GB/T 5009.163-2003. (In Chinese)
(动物性食品中氨基甲酸酯类农药多组分残留高效液相色谱测定[S]. GB/T 5009.163 - 2003.)

[4] Ren HB, Zhang XB, Jing HT, et al. Comparative Study of the Detection of the Carbamate Insecticides in Vegetables by GC-MS and HPLC Post-column Derivatization [J]. Modern Sci Instru, 2008, 3: 26-28. (In Chinese)
(任红波, 张晓波, 金海涛, 等. 蔬菜中氨基甲酸酯类农药检测的 GC-MS 法与液相色谱柱后衍生法的对比研究 [J]. 现代科学仪器, 2008, 3: 26-28.)

[5] Maximum residue limits for pesticides in food [S]. GB 2763-2005. (In Chinese)
(食品中农药最大残留限量[S]. GB 2763 - 2005.)

收稿日期 2012-09-01 编辑 崔宜庆

(上接第 146 页)

分析及对策研究[J]. 医学与社会, 2011, 24(4): 29-31.)

[7] Zeng C'E, Huang SQ, Tian LG, et al. AIDS relative risk behaviors among women who have sex with women [J]. Chin J Epidemiol, 2007, 28(3): 294-296. (In Chinese)
(曾春娥, 黄水群, 田利光, 等. 女女性接触者/群体及艾滋病相关危险行为[J]. 中华流行病学杂志, 2007, 28(3): 294-296.)

[8] Young RM, Weissman G, Cohen JB. Assessing risk in the absence of information: HIV risk among women injection drug users who have sex with women [J]. AIDS and Public Policy Journal, 1992, 7: 175-183

[9] Cai YM, Hong FC, Feng TJ, et al. Knowledge of HIV/AIDS and characteristics of heterosexual intercourse among men who have sex

with men in Shenzhen [J]. China Tropical Medicine, 2010, 10(7): 819-820. (In Chinese)
(蔡于茂, 洪福昌, 冯铁建, 等. 深圳市 458 例男男性行为者艾滋病知识与性行为调查[J]. 中国热带医学, 2010, 10(7): 819-820.)

[10] Cai YM, Hong FC, Pan P, et al. Service pattern on STD & HIV care and support for men who have sex with men in Shenzhen [J]. China Tropical Medicine, 2012, 12(8): 937-939. (In Chinese)
(蔡于茂, 洪福昌, 潘鹏, 等. 深圳市男男性行为者艾滋病性病关怀和支持服务模式[J]. 中国热带医学, 2012, 12(8): 937-939.)

收稿日期 2012-11-12 编辑 谢永慧