

生鲜牛乳中农药多残留分析方法研究

杨红^{*1}, 郭华¹, 赵维佳¹, 吴菊清², 周光宏²

(1. 南京农业大学理学院; 2. 南京农业大学食品科技学院, 南京 210095)

摘要:本文报道生鲜牛乳中不同类型农药的多残留同时快速检测方法。样品经乙腈、丙酮(1:1, V/V)混合溶剂提取, 离心, C_{18} 固相萃取柱纯化、富集, 采用毛细管气相色谱法, 电子捕获检测器检测, 进行定性、定量检测有机氯、有机磷和拟除虫菊酯等14种农药的残留量。本法的加标回收率为78.5%~104.6%(敌敌畏为63.2%); 检出限为0.5~14.0 $\mu\text{g/L}$; 线性相关系数 $r^2 \geq 0.9922$ 。

关键词:牛奶; 农药多残留分析; 气相色谱; 固相萃取

中图分类号: O657.7⁺1; O658.2 **文献标识码:** A

农畜产品中农药残留分析通常需经过样品制备、纯化、分离检测和综合分析等步骤。生鲜牛乳中农药残留的检测已有文献报道。在已报道的分析方法中, 有的使用大量的有机溶剂, 耗时较长且需要较复杂的萃取及纯化过程^[1-3]; 有的采取简便的前处理净化过程, 但检测方法通常是同种类农药的多残留测定^[4]。

本文采用一种简单、快速的提取方法, 固相萃取富集、净化, 毛细管气相色谱法同时检测牛奶中多种类型农药的残留。检测结果符合多残留农药检测要求。

1 实验方法

1.1 仪器与试剂

GC-3800 气相色谱仪(美国, Varian), 配电子捕获检测器, 8410 自动进样器, Star toolbar 式数字处理工作站; 色谱柱为 SPB-5(30 m \times 0.25 mm \times 0.25 μm); WD-35 旋转浓缩仪(瑞士, Buchi); TD-1 型固相萃取仪(美国, Agilent); C_{18} 固相萃取小柱(美国, Supelco)。

敌敌畏(DDVP), α -六六六(α -BHC), β -六六六(β -BHC), γ -六六六(γ -BHC), δ -六六六(δ -BHC), 五氯硝基苯(Quintozene), 甲基 1605 (Parathion-methyl), 三唑酮 (Triadimefon), o, p' -滴滴滴(o, p' -DDD), p, p' -滴滴滴(p, p' -DDD), o, p' -滴滴涕(o, p' -DDT), p, p' -滴滴涕(p, p' -DDT), 氰戊菊酯(Fenvalerate), 溴氰菊酯(Deltamethrin), 均购于国家标准物质中心, 含量 $\geq 99\%$ 。乙腈、丙酮、石油醚、正己烷、磷酸、氯化钠均为分析纯。

1.2 色谱操作条件

汽化室温度: 260 $^{\circ}\text{C}$; 检测室温度: 280 $^{\circ}\text{C}$; 柱温为程序升温: 80 $^{\circ}\text{C}$ (3 min), 然后以 10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升温到 250 $^{\circ}\text{C}$; 载气: 高纯氮气, 流速: 1.5 mL/min, 尾吹气: 28 mL/min。

1.3 样品的提取和净化

量取 10 mL 鲜牛奶于 50 mL 离心管中, 分别加入 10 mL 丙酮、10 mL 乙腈和 1 mL 磷酸, 充分振摇 20 min; 然后以 3 000 r/min 离心 15 min, 将上清液倒入 125 mL 分液漏斗中。另加入 10 mL 乙腈于离心管内再进行一次萃取和离心(方法同上), 合并上清液于分液漏斗中。在分液漏斗中加入少量氯化钠, 充分振荡、静置、分层, 弃水层, 收集有机相于圆底烧瓶中, 并于 40 $^{\circ}\text{C}$ 真空旋转浓缩至干。

在真空旋转浓缩至干的圆底烧瓶中分别加入 1 mL 乙腈和石油醚, 超声振荡溶解, 并将其转移至 C_{18} 固

相萃取小柱上,这种洗涤过程反复进行 4 次,收集流出液,真空旋转浓缩至干。正己烷定容后,待 GC 检测。

2 结果与讨论

2.1 样品前处理方法的选择

2.1.1 提取溶剂的选择 分别使用丙酮、乙腈、丙酮和乙腈混合液、氯仿四种溶剂提取。结果显示,使用丙酮、乙腈、氯仿提取时其回收率分别为 58.7%~80.1%;60.3%~86.8%;47.7%~78.5%,均低于丙酮和乙腈混合液的提取回收率。且选择丙酮和乙腈混合溶液为提取剂较使用丙酮、乙腈、氯仿三种提取剂的干扰小、分离效果好。

2.1.2 磷酸破乳 在用溶剂提取时,如果未加入磷酸,则在后续浓缩、固相萃取过程中仍可看到白色絮状物存在,给有效分离造成一定的影响。当加入少许磷酸后,这种情况大为改善,白色絮状物减少或消失,可最大限度地除去脂肪等干扰物质。再经液液萃取,除去水溶性杂质,最大限度地提取待检农药多残留成分,从而提高回收率。

2.1.3 固相萃取 待检样品的净化试验证明,使用 C_{18} 固相萃取净化、富集待检样品,可进一步使牛奶中待检多种不同类型农药和杂质分离开来。此法使用溶剂少、快速、简便和有效。在样品分析中未见杂质干扰峰影响待检农药种类的定性定量分析。

2.2 色谱分离

本研究选用有机磷、有机氯和拟除虫菊酯等多种不同类型农药一次进样进行气相色谱分析。待检农药因结构、极性、熔沸点等存在差异,故色谱条件的选择,直接影响各类农药的色谱分离效率。我们采用极性相当的 SPB-5(30 m×0.25 mm×0.25 μ m)毛细管柱,根据各类农药之间的差异,反复优选程序升温条件,最终确定柱温为 3 min 内升温至 80℃,然后以 10℃/min 升温到 250℃;40 min 内使多种不同类型的 14 种农药在气相色谱上得以有效分离。

以标准样品的质量浓度为横坐标,相应的峰面积为纵坐标,获得多种不同类型农药标准曲线、相关系数及检出限。标准曲线呈良好的线性关系,相关系数为 0.992 2~0.999 5,说明本检测方法可行。实验结果见表 1。

Table 1 Regression equations and detection limit of 14 pesticides

Pesticides	Regression equations	Correlation coefficient (r^2)	Retention time(min)	Detection limit(μ g/L)
<i>o,p'</i> -DDD	$y = +2.1837 \times 10^5 x + 2.6012 \times 10^4$	0.996 1	19.660	1.2
<i>p,p'</i> -DDD	$y = +1.6954 \times 10^5 x + 1.7193 \times 10^4$	0.995 9	20.400	0.8
<i>o,p'</i> -DDT	$y = +1.6762 \times 10^5 x + 1.8634 \times 10^4$	0.995 3	20.556	0.8
<i>p,p'</i> -DDT	$y = +2.0066 \times 10^5 x + 1.9921 \times 10^4$	0.994 2	21.300	0.8
α -BHC	$y = +2.3149 \times 10^5 x + 1.3894 \times 10^4$	0.993 6	14.926	0.5
β -BHC	$y = +2.7941 \times 10^4 x + 2.0210 \times 10^4$	0.993 2	15.208	0.5
γ -BHC	$y = +2.6050 \times 10^5 x + 1.4986 \times 10^4$	0.998 5	15.625	0.5
δ -BHC	$y = +2.6750 \times 10^5 x + 1.4199 \times 10^4$	0.997 5	16.059	0.5
Triadimefon	$y = +9.6914 \times 10^4 x + 2.1386 \times 10^4$	0.996 4	17.935	2.5
Parathion-methyl	$y = +5.9292 \times 10^4 x + 2.0346 \times 10^4$	0.992 2	16.919	5.0
Quintozene	$y = +2.2383 \times 10^5 x + 2.4359 \times 10^4$	0.999 5	15.736	0.5
DDVP	$y = +1.1499 \times 10^4 x + 1.2587 \times 10^4$	0.992 5	9.161	10.0
Fenvalerate	$y = +2.0141 \times 10^5 x - 1.1244 \times 10^4$	0.993 0	33.920	12.0
Deltamethrin	$y = +1.6880 \times 10^5 x + 1.2292 \times 10^5$	0.996 5	39.710	14.0

2.3 样品的加标回收率

采用上述分离分析方法,在牛奶中分别添加三个浓度水平的 14 种混合农药进行加入标准回收实验,结果见表 2。每一种浓度重复测定 5 次,除敌敌畏加入回收率为 63.2%以外,其余各种农药的加入回收率

在 78.5%~104.6% 范围内,可满足多残留分析的要求。

Table 2 Recovery of 14 pesticides residues from milk

Pesticides	Recovery(%)	RSD(%)	Pesticides	Recovery(%)	RSD(%)
<i>o,p'</i> -DDD	95.1	1.52	α -BHC	92.9	1.72
<i>p,p'</i> -DDD	78.5	1.37	β -BHC	80.0	2.33
<i>o,p'</i> -DDT	96.0	1.29	γ -BHC	104.6	2.44
<i>p,p'</i> -DDT	100.9	1.11	δ -BHC	87.9	1.63
Triadimefon	81.3	1.61	DDVP	63.2	2.43
Parathion-methyl	96.1	1.91	Deltamethrin	87.3	4.67
Quintozone	84.0	0.95	Fenvalerate	93.1	4.82

参考文献:

- [1] Malcolm R S. Chemical Analysis in Complex Matrices[M]. New York: Ellis Horwood, 1992: 280.
- [2] Mukherjee I, Gopal M. J. AOAC Int. [J], 1993, 76: 283.
- [3] Waliszewski S M, Pardio V T, Waliszewski K N et al. Food Contam. and Addit. [J], 1996, 13: 231.
- [4] 王兆基. 分析化学[J], 1998, 26(2): 158.

Study on Analysis of Pesticide Multiresidues in Milk

YANG Hong^{*1}, GUO Hua¹, ZHAO Wei-jia¹, WU Jiu-qing², ZHOU Guang-hong²

(1. College of Science, Nanjing Agricultural University;

2. College of Food Science and Technology, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095)

Abstract: A rapid detection method has been comprehensively described for multiresidue determination of pesticides in fresh milk. The milk sample was homogenized with acetone and acetonitrile(V:V=1:1), centrifuged. The extract was purified on a C₁₈ cartridge, collected and evaporated to dryness. The 14 pesticides were separated from the GC-ECD by capillary gas chromatographic column. The average recovery of the pesticides added to milk was 78.5%~104.6% (except DDVP was 63.2%). The detection limits of the pesticides were 0.5~14.0 μ g/L. The correlation coefficients were not less than 0.992 2.

Key words: Milk; Analysis of pesticide multiresidues; Gas chromatography; Solid-phase extraction