

蔬菜有机磷农药多残留检测中的样品基质干扰及检测方法的适宜性

吴成^{1,2}, 许志强², 张晓丽^{1*}, 李关宾¹

(1. 山东大学化学与化工学院, 济南 250100; 2. 山东省农业环境保护总站, 济南 250100)

摘要: 为研究 NY/T 761-2004(农业行业标准)用于蔬菜有机磷农药多残留检测中的样品基质干扰问题, 根据 NY/T 761-2004 分析众多蔬菜样品, 结合气质联用技术, 评估蔬菜样品基质对有机磷农药多残留分析的干扰。结果表明, 用 NY/T 761-2004 检测蔬菜有机磷农药多残留时, 绿叶菜类、白菜类、瓜类、茄果类、豆类、薯芋类和根菜类蔬菜几乎没有样品杂质峰, 有机磷农药测定不受干扰; 甘蓝类蔬菜(如紫甘蓝、甘蓝和西兰花等)有显著的样品杂质峰, 敌敌畏、甲胺磷、甲拌磷和甲基毒死蜱等测定常受干扰; 葱蒜类蔬菜(如蒜、葱和非菜等)有较强的样品杂质峰, 有机磷农药多残留测定无法进行。

关键词: 蔬菜; 有机磷农药; 残留检测; 基质干扰

中图分类号: S129 **文献标识码:** B **文章编号:** 1002-6819(2007)9-0208-05

吴成, 许志强, 张晓丽, 等. 蔬菜有机磷农药多残留检测中的样品基质干扰及检测方法的适宜性[J]. 农业工程学报, 2007, 23(9): 208-212.

Wu Cheng, Xu Zhiqiang, Zhang Xiaoli, et al. Matrix interference and suitability evaluation with multi-residue analysis of organophosphorus pesticides in vegetables[J]. Transactions of the CSAE, 2007, 23(9): 208-212. (in Chinese with English abstract)

0 引言

中国农产品质量安全日益受到重视, 农业部已对 37 个大中城市蔬菜农药多残留开展例行监测, 《中华人民共和国农产品质量安全法》规定了中国建立农产品质量安全监测制度。蔬菜有机磷农药多残留检测方法主要有气相色谱/质谱检测器联用法(GC/MS)、气相色谱/火焰光度检测器联用法(GC/FPD)和气相色谱/氮磷检测器联用法(GC/NPD)。GC/MS 定性能力强, 但定量灵敏度差; 气相色谱定性准确度低, 但定量快速灵敏, 被广泛用于蔬菜农药多残留检测。目前农业部蔬菜有机磷农药多残留例行监测执行农业标准 NY/T 761-2004^[1], 用 GC/FPD 快速检测蔬菜有机磷农药残留, 对超标或接近限量值样品, 用双柱双 FPD 复测, 仍不能确认的再用 GC/MS 判定, 这样蔬菜中农药多残留检测更快速准确。

样品基质干扰是色谱分析中的常见现象, 基质干扰指样品中除分析物以外的其他成分对分析方法准确测定分析物能力的干扰, 包括影响待测物出峰和检测信号响应。各类蔬菜组成复杂, 可能干扰蔬菜农药残留检测。配置磷滤光片的 FPD 虽然对有机磷农药高度选择性响应, 但对挥发性硫化物也会有响应, 一些蔬菜(如甘蓝类和葱蒜类蔬菜)含挥发性有机硫化物^[2-4], 这可能干扰 GC/FPD 检测这些蔬菜中有机磷农药残留。目前国内外还未有 GC/FPD 检测蔬菜有机磷农药多残留时样品基质干扰问题的系统报道。为促进蔬菜质量安全例行监测工作, 我们通过分析众多蔬菜例行检测样品中有机磷农药检测结果, 研究了农业标准 NY/T 761-2004 用于各类蔬菜样品有机磷农药多残留检

测时的样品基质干扰问题。这对在今后蔬菜质量安全例行检测工作中针对不同类别蔬菜样品选用不同样品基质干扰去除方法有一定指导意义。

1 材料与方法

1.1 试剂与材料

方法所用试剂主要有: 乙腈(高效液相色谱(HPLC)级)、丙酮(二次重蒸)、氯化钠(140℃烘烤 4 h), 凡未指明规格者, 均为分析纯, 水为蒸馏水; 滤膜孔径为 0.2 μm, 厚度为 150 μm, 铝箔。10 种有机磷农药单标准储备液, 浓度为 1000 mg/L, 农业部环境监测总站提供, 使用时用丙酮配制所需农药单标和混标工作液。

1.2 主要仪器设备

旋涡混合器、匀浆机、氮吹仪、气相色谱仪(Agilent 6890N GC, 配双柱双 FPD)和气质联用仪(Agilent 6890/5973 GC/MS)。

1.3 样品处理

1) 样品来源 山东省和农业部蔬菜质量安全例行检测样品。

2) 试料制备 取 1000 g 蔬菜样品, 取可食部分, 用干净纱布轻轻擦去样品表面附着物, 用对角线分割法取对角部分, 将其切碎, 充分混匀放入食品加工器粉碎, 制成待测样, 放入分装容器中备用。

3) 提取 准确称取 25.0 g 试料放入匀浆机中, 加入 50.0 mL 乙腈, 在匀浆机中高速匀浆 2 min 后用滤纸过滤, 滤液收集到装有 5~7 g 氯化钠的 100 mL 具塞量筒中, 收集滤液 40~50 mL, 盖上塞子, 剧烈震荡 1 min, 室温下静止 10 min, 使乙腈相和水相分层^[1]。

4) 净化 从 100 mL 具塞量筒中吸取 10.00 mL 乙腈溶液, 放入 150 mL 烧杯中, 将烧杯放在 80℃水浴锅上加热, 杯内缓缓通入 N₂, 蒸发至干, 加入 2.0 mL 丙酮, 盖上铝箔待测。

收稿日期: 2006-09-26 修订日期: 2007-08-17

作者简介: 吴成(1971-), 男, 四川成都人, 博士研究生, 主要从事农产品农药残留分析研究。济南 山东大学化学与化工学院, 250100。Email: wucheng7745@sina.com

*通讯作者: 张晓丽, 教授, 主要从事化学分析研究。济南 山东大学化学与化工学院, 250100。Email: wuchen7745@sina.com

将上述烧杯中用丙酮溶解的样品,完全转移至15 mL刻度离心管中,再用约3 mL丙酮分3次冲洗烧杯,并转移至离心管,最后准确定容至5.0 mL,在旋涡混合器上混匀,供色谱测定。如样品过于混浊,用滤膜过滤后测定。

需质谱定性的样品,试料称取50.0 g,乙腈加入100.0 mL,乙腈溶液吸取50.0 mL,其它处理同色谱,样品过滤膜后浓缩至2.0 mL。

1.4 色谱峰定性

1) 双柱定性 预柱为1.0 m×0.53 mm的脱活石英毛细管柱,两根色谱柱分别为30 m×0.53 mm×1.0 μm的50%聚苯基甲基硅氧烷(DB-17)柱和30 m×0.53 mm×1.50 μm的100%聚甲基硅氧烷(DB-1)柱,进样口温度为220℃,FPD温度为250℃,柱温程序为先以初始温度150℃保持2 min然后以8℃/min升到250℃并保持12 min;N₂(≥99.999%)流速为10 mL/min,H₂(≥99.999%)流速为75 mL/min,空气流速为100 mL/min;不分流进样,样品一式两份,由双塔自动进样器同时进样;由自动进样器吸取1.0 μL标准混合溶液(或净化后样品)注入色谱仪中,以双柱保留时间定性^[1]。

2) 质谱定性 色谱柱为30 m×0.25 mm×0.25 μm DB-5MS柱,柱温程序为初始温度60℃并保持1 min,然后以20℃/min升到170℃,再以5℃/min升到240℃并保持1 min;进样口温度为220℃,He流速为1.44 mL/min,不分流进样,进样量为2.0 μL;电子轰击电离源(EI)温度为200℃,接口温度为250℃,检测器电压为1.02 kV,溶剂切除时间为4.0 min;选择离子监测方式(SIM)扫描特征离子:敌敌畏(185, 109, 145分别表示各定性用碎片离子质量数,下同)、甲胺磷(141, 94, 126)、甲拌磷(260, 231, 121, 97)和甲基毒死蜱(286, 125, 109);由自动进样器吸取2.0 μL标准混合溶液(或净化后样品)注入气质联用仪中,以保留时间、特征离子及其相对比例定性。

2 结果与分析

通过对1000多个蔬菜样品的有机磷农药残留NY/T 761-2004检测结果分析,结合GC/MS技术,发现在用GC/FPD检测蔬菜有机磷农药多残留时,各种蔬菜对检测有不同样品杂质峰干扰,这可能是由各蔬菜样品的基质化学组成差异造成的。根据各种蔬菜基质对样品有机磷农药出峰的不同程度杂质峰干扰,把常见蔬菜划分为3类:无样品基质干扰蔬菜、有显著样品基质干扰蔬菜和有严重样品基质干扰蔬菜,下面分别予以叙述。

2.1 无样品基质干扰蔬菜

FPD对有机磷农药高度选择性响应,乙腈提取能力强,NY/T 761-2004检测蔬菜有机磷农药残留时,样品乙腈提取后不净化。分析众多蔬菜样品有机磷农药多残留检测结果表明,绿叶菜类、白菜类、瓜类、茄果类、豆类、薯芋类和根菜类等蔬菜(表1)样品中几乎没有样品杂质峰,有机磷农药测定不受干扰,这可能是由于这些蔬菜样品中不含挥发性有机硫化物^[5]。

表1 无样品基质干扰蔬菜

Table 1 Vegetables without any matrix interference

蔬菜类别	蔬菜品种
绿叶菜类	菠菜、生菜、油麦菜、莴笋、芹菜、苋菜、茼蒿
白菜类	菜心、小白菜、白菜、油菜、青菜
豆类	豌豆、荷兰豆、青豆、芸豆、豆角、长豆角、豇豆
瓜类	黄瓜、冬瓜、南瓜、西葫芦、丝瓜、苦瓜
茄果类	番茄、茄子、甜椒、辣椒
薯芋类	马铃薯、山药
根菜类	白萝卜、萝卜、胡萝卜、牛蒡

2.2 有显著样品基质干扰蔬菜

对众多蔬菜样品有机磷农药多残留检测结果分析表明,用NY/T 761-2004检测甘蓝类蔬菜(如甘蓝、紫甘蓝、西兰花、茼蒿和花椰菜)中有机磷农药多残留时,常常有样品杂质峰干扰,其中尤以紫甘蓝、甘蓝和西兰花最为显著,这可能是因为这些蔬菜样品中含有硫醚、硫醇和异硫氰酸酯等挥发性有机硫化物^[5]的缘故。

我们检测不同种植地域和季节的紫甘蓝、甘蓝、西兰花和大白菜样品中有机磷农药残留时,发现在DB-17柱和DB-1柱上,在甲胺磷出峰处都常有一强峰,用GC/MS确认该峰通常为样品杂质峰。图1为DB-17柱上紫甘蓝、甘蓝、西兰花和大白菜空白本底色谱与0.1 mg/L有机磷农药混合标样色谱对照,图1中纵坐标为色谱峰响应值,单位为pA(皮安培);横坐标为色谱峰保留时间(RT),单位为min(下图2同)。由图1各色谱图坐标值可见,这些样品杂质峰(RT为7.506~7.523 min)较强,干扰甲胺磷(RT为7.154 min)测定,尤以紫甘蓝最为强烈,在甲胺磷干扰峰附近伴有另一样品杂质峰,具体原因有待进一步研究。我们根据各蔬菜样品杂质峰和各有机磷农药标样在DB-17柱和DB-1柱上相对毒死蜱保留时间和各样品GC/MS谱图进一步发现,通常紫甘蓝样品中有甲胺磷干扰峰(RT为7.506 min)、甲拌磷干扰峰(RT为14.836 min)和甲基毒死蜱干扰峰(RT为19.139 min);甘蓝样品中有敌敌畏干扰峰(RT为5.518 min)、甲胺磷干扰峰(RT为7.523 min)和甲拌磷干扰峰(RT为14.905 min);西兰花样品中有甲胺磷干扰峰(RT为7.515 min)、甲拌磷干扰峰(RT为14.826 min)和甲基毒死蜱干扰峰(RT为19.141 min),另外西兰花样品中也有毒死蜱干扰峰^[6]。甘蓝类蔬菜基质对有机磷农药残留检测干扰不仅主要与蔬菜品种有关,一定程度上还可能受蔬菜生长环境、季节和产地等因素影响,基因型决定蔬菜生长与代谢,而气候、土壤、地形、施肥水平和管理制度等影响蔬菜生长,影响蔬菜吸收营养物质、光合作用和呼吸作用,影响蔬菜物质形成与累积。用NY/T 761-2004检测甘蓝类蔬菜样品中有机磷农药残留时,应结合GC/MS等其它色谱技术排除样品杂质峰干扰。

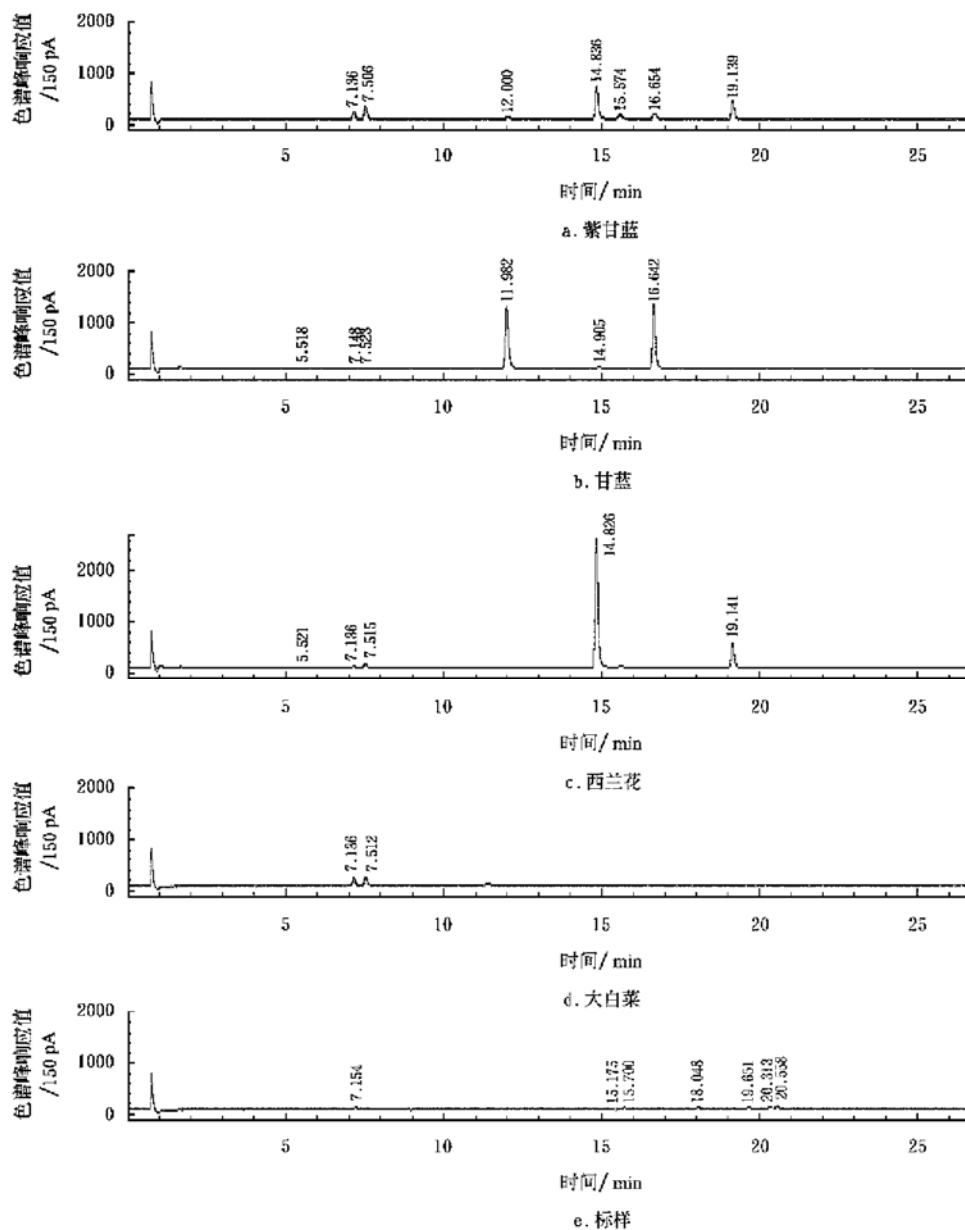


图1 甘蓝类蔬菜和大白菜样品本底色谱与有机磷标样色谱

Fig. 1 Chromatogram of cole crops and chinese cabbage samples and standard organophosphorus pesticides

2.3 有严重样品基质干扰蔬菜

按 NY/T 761-2004 检测蒜(大蒜和蒜苗)、葱(大葱、圆葱、小香葱和洋葱)和韭菜样品中有机磷农药残留时,发现这些样品杂质干扰峰太强,严重掩盖有机磷标样色谱峰,用 GC/FPD 无法测定,应用其它色谱技术(GC/NPD 和 GC/MS)。这可能是因为蒜、葱和韭菜含多种硫醚和硫醇类化合物。有文献报道,韭菜含甲基-2-丙烯基二硫醚、二甲基二硫醚和 3-甲硫基丙醛等 15 余种含硫化物^[4],大蒜有机溶剂提取液中主要含 3-乙炔基-1,2-二硫杂-5-环己烯和 2-乙炔基-1,3-二硫杂-4-环己烯以及少量 S-甲基甲烷硫代亚磺酸酯、二烯丙基二硫醚和二烯丙基三硫醚等硫化物^[2]。图 2 是 DB-17 柱上大蒜、大葱、洋葱和韭菜样品空白本底色谱与 0.2 mg/L 有机磷农药混合标样色谱,由图 2 各色谱图坐标值可见,这些样品杂质峰信号响应值大,出峰早,保留时间

集中在 15 min 内,由强到弱顺序为:大蒜>大葱>洋葱>韭菜。用 NY/T 761-2004 检测蒜、葱和韭菜样品中有机磷农药多残留时,在 DB-17 柱和 DB-1 柱上相对毒死蜱保留时间低于 1.30 的大多数有机磷农药(如甲胺磷和乐果等)是没法检测的。有效去除挥发性含硫化物是 GC/FPD 测定葱蒜类蔬菜样品中有机磷农药残留的关键。目前这种去除方法还不成熟与完善。加热与 N₂ 吹^[7],微波加热、丙酮提取与二氯甲烷反萃取^[8],乙腈提取、XAD-8 树脂柱^[9]和硅胶柱净化^[10],都只有部分降低葱蒜类蔬菜样品杂质峰对有机磷农药残留检测的干扰。我们也发现,对大蒜、葱、洋葱和韭菜样品,乙腈提取与热水浴 N₂ 吹,只能部分降低样品杂质峰,但甲拌磷和氧化乐果等有机磷农药回收率偏低,活性炭柱层析也只部分去除样品基质干扰,而弗罗里砂柱和中性氧化铝柱无净化作用。GC/NPD 和 GC/MS 是目前葱蒜类蔬

菜样品中有机磷农药残留测定的可选方法^[11-13]。

由上可见, 各类蔬菜化学组成存在差异, 用 NY/T 761-2004 检测蔬菜有机磷农药多残留时, 可能会对检测有不同程度

的样品杂质峰干扰, 这将影响检测结果的准确性。应根据各蔬菜样品化学组成特点, 选择能有效排除样品杂质峰干扰的有机磷农药多残留测定方法。

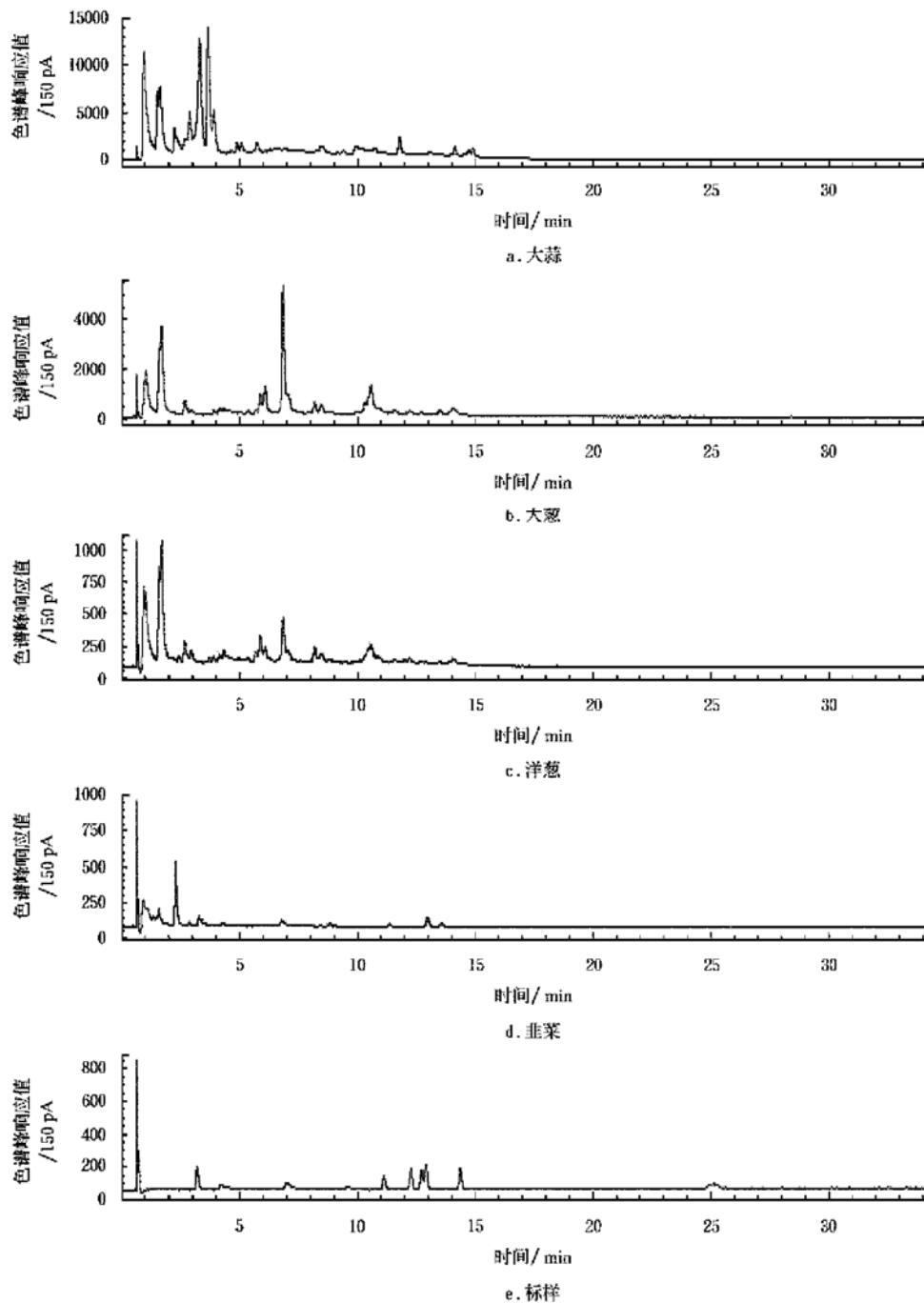


图2 葱蒜类蔬菜样品本底色谱与有机磷标样色谱

Fig. 2 Chromatogram of blank allieaceous samples and standard organophosphorus pesticides

3 结论

用 NY/T 761-2004 检测多种蔬菜有机磷农药残留时, 绿叶菜类、白菜类、瓜类、茄果类、豆类、薯芋类和根菜类蔬菜几乎没有样品杂质峰, 有机磷农药测定不受干扰; 甘蓝类蔬菜有显著样品杂质峰, 敌敌畏、甲胺磷、甲拌磷和甲基毒死蜱等的测定常

受干扰, 尤以紫甘蓝、甘蓝和西兰花的样品杂质峰干扰最为显著, 用气质联用技术(GC/MS)可排除干扰; 葱蒜类蔬菜(如蒜、葱和韭菜等)有较强样品杂质干扰峰, 这些峰出峰早, 由强到弱顺序为: 大蒜> 大葱> 洋葱> 韭菜, 用 NY/T 761-2004 无法检测蒜、葱和韭菜样品中有机磷农药残留, 可选用气质联用技术(GC/MS)。总之, 可通过完善样品提取净化技术、改变色谱分离

条件(如改变升温程序、柱切换、多维色谱等)和选用质谱技术来减轻或避免蔬菜样品基质对有机磷农药出峰的干扰。

[参 考 文 献]

- [1] NY/T 761-2004, 蔬菜和水果中有机磷、有机氯、拟除虫菊酯和氨基甲酸酯类农药多残留检测方法[S]. 北京: 中国农业出版社, 2004.
- [2] 郑屏, 盛旋, 丁袁生, 等. 冷柱头程序升温进样-气相色谱/质谱法研究新鲜大蒜中的有机硫化物[J]. 色谱, 2006, 24(4): 351-353.
- [3] 陈光伟. 大蒜油主要营养成分的气相色谱与色谱/质谱联用分析[J]. 分析化学, 1997, 25(1): 327-330.
- [4] 卫煜英, 曹艳平, 李延墨, 等. 韭菜花挥发性成分的气相色谱/质谱分析[J]. 色谱, 2003, 21(1): 96.
- [5] 陈杭. 各类蔬菜营养不同[EB/OL]. <http://www.ccn.com/sp/yy/hooo/h37/1143510445d37213.html>. 2005-11-04.
- [6] 汪军. GC/MS定性定量分析出口西兰花样品中毒死蜱的农药残留量[J]. 现代农药, 2002, (1): 23-24.
- [7] 梅文泉, 黎其万, 黄司思, 等. 加热处理-气相色谱法测定韭菜中有机磷农药残留量[J]. 分析试验室, 2006, 25(8): 42-44.
- [8] Okihashi M, Obana H, Hori S, et al. Determination of pesticide residues in onion, using a microwave oven[J]. Journal of the Food Hygienic Society of Japan, 1996, 37(1): 43-47.
- [9] Iwata Y, Sugitani A, Yamada F. An analytical method for organophosphorus pesticides in the onion[J]. Journal of the Food Hygienic Society of Japan, 1981, 22(6): 484-489.
- [10] 王连珠, 游俊, 陈枝华, 等. 固相萃取-气相色谱法快速测定大葱中有机磷农药残留量[J]. 理化检验(化学分册), 2005, 41(12): 880-883.
- [11] NY/T 447-2001, 韭菜中甲胺磷等七种农药残留检测方法[S]. 北京: 中国标准出版社, 2001.
- [12] Takeda K, Ishiguro Y, Tanaka R, et al. Study on the determination of pesticide residues in crops by ion trap GC/MS/MS[J]. Journal of the Food Hygienic Society of Japan, 2002, 43(5): 280-288.
- [13] 马晓东, 李重九. 大蒜中农药多残留分析方法研究[J]. 质谱学报, 2000, 21(3, 4): 49-50.

Matrix interference and suitability evaluation with multi-residue analysis of organophosphorus pesticides in vegetables

Wu Cheng^{1,2}, Xu Zhiqiang², Zhang Xiaoli^{1*}, Li Guanbin¹

(1. School of Chemistry and Chemical Engineering, Shandong University, Jinan 250100, China;

2. Shandong Agro-environment Protection Station, Jinan 250100, China)

Abstract: Thousands of vegetable samples were tested for the multi-residue analysis of organophosphorus pesticides in vegetables according to Chinese method NY/T 761-2004, the final identification of organophosphorus pesticides in vegetables was made by GC/MS, and the matrix interference with the multi-residue analysis of organophosphorus pesticides in vegetables was evaluated. There was almost no matrix interference with the multi-residue analysis of organophosphorus pesticides in leafy greens, Chinese cabbage, gourd, solanaceous fruits, legume, tuber taro and root crop vegetables. There was some matrix interference with the multi-residue analysis of organophosphorus pesticides in cabbage vegetables and the analysis of dichlorovos, methamidophos, phorate and chlorpyrifos-methyl in purple cabbage, cabbage and broccoli was usually interfered with, and there was so serious matrix interference with organophosphorus pesticides in alliaceous vegetables (e.g., garlic, shallot and leek) that the multi-residue analysis of organophosphorus pesticides in alliaceous vegetables could not be done according to Chinese method NY/T 761-2004.

Key words: vegetable; organophosphorus pesticides; multi-residue analysis; matrix interference