

毛细管气相色谱法测定苹果中氯氟氰菊酯残留

梁俊¹, 李海飞², 赵政阳^{1*}, 樊明涛³

(1. 西北农林科技大学园艺学院, 陕西 杨凌 712100; 2. 农业部果品及苗木质量监督检验测试中心, 辽宁 兴城 125100;
3. 西北农林科技大学食品科学与工程学院, 陕西 杨凌 712100)

摘要:建立了苹果中氯氟氰菊酯残留量的乙腈提取、弗罗里硅土(Florisol)层析净化、毛细管气相色谱—电子捕获检测器测定方法,对苹果中的氯氟氰菊酯残留进行了测定。本研究对苹果样品中农药残留提取采用乙腈代替传统的丙酮—石油醚作为提取剂,提取率高,提取溶液干净。通过 Florisol 层析柱净化,毛细管气相色谱—电子捕获检测器测定,既节省了溶剂用量、时间,又简化了预处理步骤。隔垫吹扫和玻璃衬管内填充玻璃棉消除了因样品蒸发的反扩散、吸附和垫片流失所造成的色谱峰拖尾和鬼峰的干扰。本方法得到的苹果全果、果皮和果肉中氯氟氰菊酯添加回收率分别达到 92.54%±2.3%~103.32%±4.4%、96.00%±2.8%~101.23%±2.9%和 92.50%±3.6%~104.02%±2.9%;氯氟氰菊酯的最小检出限为 5.70×10⁻¹¹ g,方法简单、快速,且回收率和灵敏度高,变异系数小。

关键词: 气相色谱;苹果;氯氟氰菊酯;残留量测定

中图分类号: S661.1; S482.3⁺5 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-7601(2008)02-0049-04

氯氟氰菊酯(cyhalothrin)是目前苹果上使用最广的菊酯类杀虫剂之一,化学名称为(1R)-顺-(乙)-2,2-二甲基-3-(2-氯-3,3,3-三氟-1-丙烯基)环丙烷羧酸-(S)-α-氰基-3-苯氧基苄酯/(1S)-顺-(乙)-2,2-二甲基-3-(2-氯-3,3,3-三氟丙烯基)环丙烷羧酸-(R)-α-氰基-3-苯氧基苄酯。分子式:C₂₃H₁₉ClF₃NO₃。化学结构式图 1:

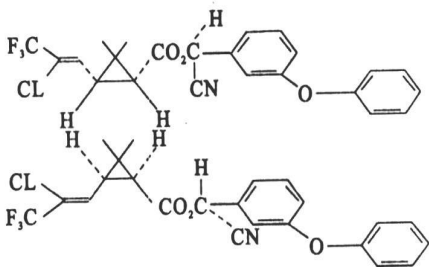


图 1 氯氟氰菊酯化学结构式

Fig.1 Chemical structure of cyhalothrin

氯氟氰菊酯是新一代拟除虫菊酯类杀虫剂,具有触杀、胃毒作用,无内吸作用。同其它拟除虫菊酯类杀虫剂相比,其化学结构式中增添了 3 个氟原子,使杀虫谱更广,活性更高,药效迅速,并具有强烈的

渗透作用,增强了耐雨冲刷能力,因而是国内外应用最广的杀虫剂之一^[1]。在苹果上主要用来防治苹果蠹蛾、桃小食心虫及叶螨类害虫。近年来,由于绿色、无公害苹果生产技术的推广应用,大量有机磷农药被禁止使用,作为杀虫剂的氯氟氰菊酯等拟除虫菊酯类农药在生产上使用有进一步扩大的趋势,其残留污染已引起人们的重视。国内外对氯氟氰菊酯的研究主要集中在对其防治虫害的效果或与其它农药混用的增效作用等方面^[2~7],对其残留分析的研究较少。对氯氟氰菊酯残留量的测定主要采用气相色谱法^[8~11],样品前处理方法有固相萃取(SPE)、超临界流体萃取(SFE)、基质固相分散萃取(MSPDE)、加速溶剂萃取(ASE)等^[12],但目前分离净化大多采用丙酮—石油醚作溶剂进行萃取等处理,且处理步骤多,费时费力,易引起误差。苹果中氯氟氰菊酯残留分析的系统研究尚未见文献报道。本研究结合现有文献,经过反复实验,提出了一种简单、快速测定苹果中氯氟氰菊酯残留量的方法,并用该方法对使用过氯氟氰菊酯的果园测定了苹果农药残留量,结果与理论值相符,为建立苹果安全综合指标体系提供依据。

收稿日期:2007-06-14
基金项目:国家“十一五”科技支撑计划课题(2006BAK02A24);陕西省重大科技创新计划(2006ZKC(一)05-01)
作者简介:梁俊(1963—),男,陕西西安人,副教授,博士研究生,主要从事苹果品质改良与质量安全研究工作。E-mail: jliang@nwuaf.edu.cn; strongca@163.com.
* 通讯作者:赵政阳(1964—),男,陕西富平人,教授,博士,主要从事苹果育种、栽培技术研究工作。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

(1) 仪器。VARIAN CP-3800 气相色谱仪, 电子捕获检测器, Star 6.2 工作站, 组织捣碎机, 调速多用振荡机, 旋转蒸发仪, 层析柱。

(2) 试剂。氯氟氰菊酯标准品: 纯度 99.0%(国家标准品中心)。乙腈、丙酮、石油醚(60~90℃)、正己烷均为分析纯, 并经重蒸馏。无水硫酸钠, 分析纯, 于 550℃灼烧 4 h, 冷却至室温, 置于干燥器中备用; 弗罗里硅土 60~100 目, 于 550℃灼烧 4 h, 取出冷却至室温, 置于干燥器中备用; 氯化钠、分析纯于 120℃烘过夜, 置于干燥器中备用。

1.2 样品的提取与分离纯化

(1) 提取。准确称取经捣碎匀浆的苹果样品 20 g(鲜重)于 250 ml 具塞三角瓶中, 加乙腈 50 ml 振荡提取 30 min 后过滤, 滤液收集于装有 5~7 g 氯化钠的 250 ml 分液漏斗中, 盖上塞子, 剧烈震摇 2 min, 室温下静置 10~15 min, 待乙腈相和水相分层。准确吸取 25 ml 乙腈溶液于 50 ml 浓缩瓶中, 于 40℃用旋转蒸发仪浓缩近干, 加 5 ml 正己烷洗涤残渣, 待柱层析净化。

(2) 分离纯化。带砂芯玻璃层析柱(250 mm×15 mm, 内径), 以淋洗液为溶剂采用湿法装柱。从

下至上依次装 20 mm 无水硫酸钠, 4 g 弗罗里硅土, 20 mm 无水硫酸钠, 轻轻敲实。将待净化提取液转移到层析柱中, 用 5% 丙酮-石油醚混合淋洗液 40 ml 分四次淋洗, 收集全部淋洗液, 旋转蒸发浓缩近干, 用正己烷定容至 2 ml, 待分析。

(3) 色谱条件。色谱柱 CP-SIL 19 弹性石英毛细管柱(0.25 mm×30 m×0.25 μm); 气流速度: 氮气 1.7 ml/min, 尾吹气 30 ml/min; 进样口温度 250℃, 检测器温度 300℃; 柱温采用程序升温方式, 150℃ $\xrightarrow{25^{\circ}\text{C}/\text{min}}$ 230℃ $\xrightarrow{5^{\circ}\text{C}/\text{min}}$ 250℃, 恒温 7 min。

(4) 结果计算。采用保留时间和外标法进行定性定量。准确吸取 1 μl 标准液以及净化后的样品溶液注入气相色谱仪, 以保留时间定性, 样品溶液峰面积与标准溶液峰面积比较定量。

2 结果与分析

2.1 保留时间和分辨率

空白样品、氯氟氰菊酯标品和空白样品添加标品的气相色谱图见图 2。从其色谱图可看出, 标品氯氟氰菊酯的保留时间为 11.684 min, 样品中氯氟氰菊酯的保留时间为 11.978 min, 空白在其附近无色谱峰, 标准样品色谱峰的理论塔板数为 46 021, 说明所选择的色谱条件氯氟氰菊酯能够得到良好分离, 日分辨率高, 适合干分析苹果中的氯氟氰菊酯。

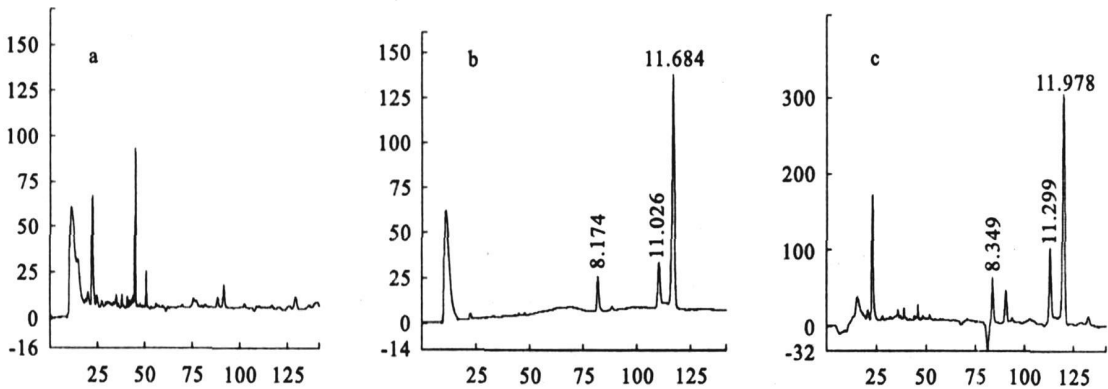


图 2 氯氟氰菊酯气相色谱图

Fig.2 GC diagram of cyhalothrin

a: 空白样品; b: 氯氟氰菊酯标准品 1.5 ng; c: 空白添加, 1:1500 倍喷 3 次第 23 d 全果样品。

a; CK; b; Cyhalothrin 1.5 ng; c: Blank appending, sample of 1500 times spraying 3 times after treatment 23 d.

2.2 方法准确度及精密度

测定方法的准确度以全过程标准添加回收率来衡量, 方法的精密度以测定结果的变异系数来衡量。分别称取匀浆好的苹果全果、果肉、果皮各 20 g, 全果、果肉、果皮均分别添加 0.08、0.2 和 2.0 mg/kg 三个浓度水平的标准溶液, 每水平重复 6 次, 计算回

收率, 结果见表 1。

由表 1 结果可以看出, 全果、果皮和果肉中氯氟氰菊酯的添加回收率分别为 92.54%±2.3%~103.32%±4.4%、96.00%±2.8%~101.23%±2.9%和 92.50%±3.6%~104.02%±2.9%, 其准确度和精密度均很好满足农药残留分析检测要求^[13]。

表 1 氯氟氰菊酯在苹果中添加回收率
Table 1 The recovery rate of cyhalothrin in apple

样品 Sample	添加浓度 Added concentration (mg/kg)	平均回收率* Average recovery rate (%)	变异系数 CV (%)
全果 Apple	0.08	92.54	2.3
果皮 Apple peel	0.08	96.00	2.8
果肉 Apple pulp	0.08	104.02	2.9
全果 Apple	0.2	96.50	2.8
果皮 Apple peel	0.2	101.23	2.9
果肉 Apple pulp	0.2	98.23	2.0
全果 Apple	2.0	103.3	4.4
果皮 Apple peel	2.0	100.40	2.4
果肉 Apple pulp	2.0	92.50	3.6

注: * 6 次平均值。Note: Average of six times.

2.3 方法的灵敏度

经反复试验,在本文色谱条件下氯氟氰菊酯在 $8.8321 \times 10^{-11} \text{ g} \sim 1.9687 \times 10^{-9} \text{ g}$ 之间呈线性关系(见图 3),线性方程为: $A = 6 \times 10^6 C + 212582$ ($r = 0.9993$)。本方法氯氟氰菊酯的最小检出限为 $5.70 \times 10^{-11} \text{ g}$, 样品的最小检出浓度为 0.0011 mg/kg , 远低于我国无公害苹果农药残留最大限量

(0.2 mg/kg)^①和欧盟规定的梨果农药最大残留限量(0.1 mg/kg)。

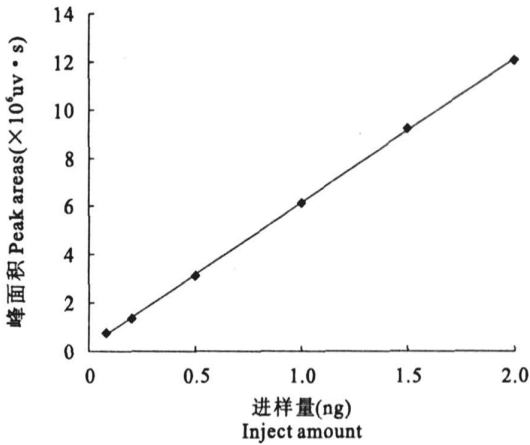


图 3 氯氟氰菊酯线性关系

Fig. 3 Linear relations of cyhalothrin

2.4 苹果中农药残留量的测定

试验果园位于陕西省富平县梅家坪镇。供试作物为嘎拉和富士苹果。施药方法为常规喷雾。果园按照日常管理进行。果园试验施药设计及用本方法进行测定的结果见表 2。

表 2 果园试验施药设计及残留量测定结果
Table 2 The design of spraying cyhalothrin pesticide in orchard and the residue results

品种 Variety	施药浓度 Concentrations	次数 Times	最后一次施药时间(月-日) Data of last spray (m-d)	处理后天数 After treatment days (d)	残留量 Residues(mg/kg)		
					果皮 Apple peel	全果 Apple	果肉 Apple pulp
富士 Fuji	1:1500	1	08-17	1	0.113	0.039	0.005
富士 Fuji	1:1500	1	08-17	23	0.064	0.016	0.002
嘎拉 Gala	1:1500	3	06-09	5	0.166	0.051	未检测到 Not detected
嘎拉 Gala	1:1500	3	06-09	23	0.050	0.027	未检测到 Not detected

由表 2 结果可以看出,在处理后 23 d,嘎拉苹果全果和果皮中氯氟氰菊酯的残留量分别为 0.027 和 0.050 mg/kg ,富士苹果全果、果肉、果皮中的残留量分别为 0.016、0.002 和 0.064 mg/kg ,均低于我国无公害苹果农药残留限量标准(0.2 mg/kg)。喷 3 次药的嘎拉果皮 23 d 后农药残留(0.050 mg/kg)比喷 1 次药的富士果皮 23 d 后的农药残留(0.064 mg/kg)低,这可能是因为嘎拉喷药时间比富士早,较高的气温使得果皮上的氯氟氰菊酯降解更快。

因此,由不同施药浓度和施药次数以及苹果不同部位氯氟氰菊酯残留量测定的结果可证明此测定

方法是可应用的。

3 讨论

3.1 样品的预处理

样品预处理的目的是将残留在样品中的农药尽可能多地提取出来,而且样品中的其他干扰物质,如脂肪、蜡质、色素等,尽可能与之分离^[14]。水果样品提取中可以使用很多溶剂,作者选用了极性中等的乙腈溶剂,有效提取苹果中菊酯类农药且干扰物提取少,回收率达到 92.5%~104.0%。在 AOAC 推荐的多残留分析方法中,苹果样本也采用乙腈为提取溶剂。因此,本研究对苹果样品中氯氟氰菊酯农药残留采用乙腈代替传统的丙酮-石油醚作为提取

①农业部, NY/T 5011-2001, 无公害食品: 苹果, 2001.
(C)1994-2023 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

剂提取,提取溶液干净,只需通过弗罗里硅土层析柱净化即可,既简化了预处理步骤又节省了溶剂,且有

3.2 色谱条件的确立

在实际检测中,既要保证待测物的完全分离,又要保证所有组分流出色谱柱,且分析时间越短越好。对于组成复杂的样品,常需要采用程序升温分离。程序升温通过在不同阶段使用不同的升温速率,从而达到在不同阶段有不同的温度,使待测物在适当的温度下流出采用低的升温速率,分离度高,但分析时间长、灵敏度低;若用高的升温速率,分析时间可缩短,检测灵敏度可以提高,但分离度却下降,影响定量分析^[15]。本文选用不分流进样方式,进样量大,样品几乎全部进入色谱柱中,色谱峰绝对响应值高;隔垫吹扫和玻璃衬管内填充玻璃棉的措施消除了因样品蒸发的反扩散、吸附和垫片流失所造成的色谱峰拖尾和鬼峰的干扰^[16]。经过反复实验,本研究中采用的色谱条件,氯氟氰菊酯分离效果好,检测灵敏度高,分析时间短。

4 结 论

本研究测定苹果中氯氟氰菊酯残留量的方法,以乙腈代替传统的丙酮—石油醚作为萃取剂,以弗罗里硅土层析柱代替固相萃取柱,利用隔垫吹扫和玻璃衬管内填充玻璃棉的措施消除了因样品蒸发的反扩散、吸附和垫片流失所造成的色谱峰拖尾和鬼峰的干扰。采用乙腈提取,弗罗里硅土分离净化,毛细管气相色谱—电子捕获监测器测定的方法,具有分离效果好,回收率高,操作简单、经济快速的特点,经对苹果样品农药残留测定,证明完全能够满足苹果中氯氟氰菊酯农药残留检测要求。

参 考 文 献:

[1] 沙家骏,张敏恒,姜雅君,等.国外新农药品种手册[M].北京:化学工业出版社,1993.78—81.

很高的回收率和较低的变异系数。

- [2] Sally K Mak, Guomin Shan, Hu-Jang Lee, et al. Development of a class selective immunoassay for the type II pyrethroid insecticides[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2005, 534(1): 109—120.
- [3] Carla Soler, Jordi Manes, Yolanda Picó. Liquid chromatography-electrospray quadrupole ion-trap mass spectrometry of nine pesticides in fruits[J]. *Journal of Chromatography A*, 2004, 1048(1): 41—49.
- [4] Katerina Mastovská, Steven J Lehotay. Evaluation of common organic solvents for gas chromatographic analysis and stability of multiclass pesticide residues[J]. *Journal of Chromatography A*, 2004, 1048(2): 259—272.
- [5] 薛银根.三氟氯氰菊酯与双甲脒混用对山楂叶螨和朱砂叶螨的增效作用研究[J]. *农药*, 1994, 33(4): 51, 53.
- [6] 刘 雷,高善兵,朱秀红.三氟氯氰菊酯防治菜青虫、小菜蛾试验[J]. *长江蔬菜*, 2000, (11): 25—26.
- [7] 查月珍.三氟氯氰菊酯农药中微量杂质的液相色谱—质谱法鉴定[J]. *分析测试学报*, 2001, 20(1): 74—75.
- [8] 孙卫萍,方 路,王高升.三唑磷、三氟氯氰菊酯乳油的气相色谱分析[J]. *浙江化工*, 1999, 30(1): 23—24.
- [9] 闫 实,王立仁,张 静,等.蔬菜中甲氰菊酯、氯氰菊酯、氰戊菊酯和三氟氯氰菊酯残留量测定方法的研究[J]. *农业环境与发展*, 2003, 20(5): 42—44.
- [10] Atmakuru Ramesh, Perumal Elumalai Ravi. Electron ionization gas chromatography-mass spectrometric determination of residues of thirteen pyrethroid insecticides in whole blood[J]. *Journal of Chromatography B*, 2004, 802(2): 371—376.
- [11] Jibao Cai, Baizhan Liu, Xiaolan Zhu, et al. Determination of pyrethroid residues in tobacco and cigarette smoke by capillary gas chromatography [J]. *Journal of Chromatography A*, 2002, 964(1~2): 205—211.
- [12] 李海飞,赵政阳,梁 俊.苹果农药残留研究进展[J]. *果树学报*, 2005, 22(4): 381—386.
- [13] 樊德方,陈鹤鑫.农药残留分析的规范[J]. *中国农业科学*, 1983, 3: 35—39.
- [14] 付 颖.食品中农药残留的分析[J]. *农药*, 2001, 40(6): 5—7.
- [15] 王龙根.蔬菜中 6 种菊酯农药残留的检测[J]. *安徽农业科学*, 2004, 32(1): 91, 108.
- [16] 刘虎威.气相色谱方法及应用[M].北京:化工出版社,2000.

(英文摘要下转第 84 页)

tures had relative high activities of protective enzymes, and these enzymes behaved relatively cooperativity. The contents of MDA were low and enhanced little. WSS contents in roots decreased at first and increased later. The activities of protective enzymes in *Pennisetum flaccidum* were in the middle under light grazing intensities and became smaller under heavy grazing intensities. POD activity of *Leymus secalinus* had no evident coherence with SOD and CAT activities. The contents of MDA in these two pastures enhanced markedly, while the contents of WSS declined continuously. When grazing intensity reached 1.50 sheep/hm², the contents of MDA of *Pennisetum flaccidum* and *Leymus secalinus* were 4.68 and 3.89 times those of 0 sheep/hm² respectively. Protective enzymes activities of *Lespedeza potaninii* were relatively low; moreover, MDA content was in the lowest and had a small enhancement. The content of WSS decreased at first and increased later. The changes of reducing sugars contents in roots for *Cleistogenes squarrosa* and *Lespedeza potaninii* accorded with the changes of WSS, but reducing sugars and WSS contents changes of other pastures did not represent obvious coherence. With the above physiological indexes as an estimation of feasible grazing intensity for testing pastures, grazing intensity of *Stipa bungeana* and *Cleistogenes squarrosa* should be no more than 1.05 sheep/hm², *Leymus secalinus* no more than 0.45 sheep/hm², *Pennisetum flaccidum* no more than 0.60 sheep/hm². For *Lespedeza potaninii*, grazing intensity could reach 1.50 sheep/hm².

Key words: desert steppe; grazing intensities; pastures; physiological indexes

(上接第 52 页)

Determination of cyhalothrin pesticide residue in apple by capillary GC method

LIANG Jun¹, LI Hai-fei², ZHAO Zheng-yang¹, FAN Ming-tao³

(1. College of Horticulture, Northwest A & F University, Yangling, Shaanxi 712100, China; 2. The Fruits and Seedling Quality Supervisory Inspection Test Center of Ministry of Agriculture, Xingcheng, Liaoning 125100, China;

3. College of Food Science and Engineering, Northwest A & F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: The method on determination of cyhalothrin pesticide residues by capillary GC in apple was established, and the cyhalothrin residues in apple were determined by the method. The residues were extracted from apple with acetonitrile which substitute the mixture of acetone and petroleum ether, and the extraction solution had little impurity and was comparatively clean, decontaminated with Florisil, and determined by GC with electron capture detector, the step of preparation was simplified, and the method reduced solvent consumption, saving time, as well. The method of infilling glass cotton in glass inner tube avoided the disturbance of chromatography peak and impurity peak which because reverse pervasion and adsorption of sample vapor and septum lose. The recoveries of the three spiked levels of cyhalothrin were from 92.54%±2.3% to 103.32%±4.4% in whole apple, from 96.00%±2.8% to 101.23%±2.9% in apple peel and from 92.50%±3.6% to 104.02%±2.9% in apple pulp. The minimum detection limits of cyhalothrin were 5.70×10^{-11} g. It was a sensitive, simple and reliable method to determine the residues of cyhalothrin in apple, the result of recovery rate and coefficient of variation and minimum detection limits were famous.

Key words: gas chromatography; apple; cyhalothrin; determination