

基质固相分散萃取-气相色谱法测定 罗汉果中六六六、滴滴涕

陈晓兰¹, 邓全道^{1*}, 黄慧玲², 欧翔¹

(1. 桂林出入境检验检疫局, 桂林 541004; 2. 海南出入境检验检疫局技术中心, 海口 570811)

摘要: **目的** 建立罗汉果中六六六、滴滴涕的基质固相分散萃取(MSPD)-气相色谱(GC)分析方法。**方法** 采用基质固相分散萃取技术作为前处理方法, 用气相色谱法进行快速定性定量分析。**结果** 八种有机氯农药的添加回收率在 75.1%~112.4%之间, 相对标准偏差为 2.1%~12.4%之间。基质固相分散萃取将提取、过滤和净化一步完成, 简化了传统样品的前处理过程, 缩短了时间, 节省溶剂, 也减少了对环境的污染。**结论** 该方法作为罗汉果中的六六六、滴滴涕有机氯农药残留的快速检测新方法, 基本能满足国内以及国际对农药残留分析质量控制要求。

关键词: 基质固相分散萃取; 气相色谱; 六六六; 滴滴涕; 罗汉果

Determination of hexachlorocyclohexane and dichlorodiphenyl trichloroethane in *Siraitia grosvenori* fruits by matrix solid phase dispersion-gas chromatography

CHEN Xiao-Lan¹, DENG Quan-Dao^{1*}, HUANG Hui-Ling², OU Xiang¹

(1. Guilin Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Guilin 541004, China;

2. Technological Center Hainan Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Hankou 570811, China)

ABSTRACT: Objective To establish a method for the analysis of hexachlorocyclohexane (HCH) and dichlorodiphenyl trichloroethane (DDT) by matrix solid phase dispersion-gas chromatography (MSPD-GC). **Methods** The samples were pretreated by matrix solid phase dispersion, and then qualitatively and quantitatively determined by GC. **Results** The recoveries range from 75.1% to 112.4%, with the RSD of 2.1%~12.4%. The matrix solid phase dispersion can make extracting, filtering and cleaning in one step which made the sample preparations become rapid. **Conclusion** The new method as the rapid analysis of organochlorine pesticide BHC and DDT in *Siraitia grosvenori* fruits can basically meet the requirements of pesticide residue analysis standard in the domestic and international.

KEY WORDS: matrix solid phase dispersion; gas chromatography; hexachlorocyclohexane(HCH); dichlorodiphenyl trichloroethane(DDT); *Siraitia grosvenori* fruits

以六六六、滴滴涕为代表的有机氯农药具有广谱高效的杀虫特点, 曾经在世界各地被广泛地应用于农业生产, 并在现代的农业生产中发挥了积极的作

用。有机氯农药属于神经毒素, 急性毒性小, 在短时间内很难发现其对人类健康的危害, 但现代科学已经证明, 该类农药在人体内脂肪蓄积会致人慢性中

*通讯作者: 邓全道, 高级工程师, 主要研究方向为进出口食品、化妆品、矿产品检测。Email: dengquandao@126.com

*Corresponding author: DENG Quan-Dao, Senior Engineer, Guilin Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, No.25, Lijiang Road, Guilin 541004, China. E-mail: dengquandao@126.com

毒的危险, 损害中枢神经系统, 严重危及人体的健康。同时, 有机氯类农药的化学性质稳定, 很难降解、耐、热耐酸、不溶于水、易溶于有机溶剂等特点, 使得有机氯化合物在自然环境或生物体内均不易被破坏、分解^[1]。所以, 虽然六六六、滴滴涕等有机氯农药已经在大多数国家被禁止使用, 但它们通过食物链、生物富集而长期蓄积在环境和生物体内, 对人类依然形成很大的危害。

基质固相分散萃取(matrix solid phase disperse, MSPD)是1989年由美国Louisiana州立大学的Staren Barker首次提出的一种新的样品前处理技术。MSPD是将样品直接与固相萃取填料(如C₁₈、C₈、弗罗里硅土、氧化铝等)一起混合研磨, 使样品均匀分散于填料, 形成一个独特的色谱分析样品前处理方法(相当于目前市场销售的商品固相萃取柱), 装柱, 洗脱, 洗脱液浓缩以后可以直接进行色谱分析。由于基质固相分散提取将提取、过滤、净化等步骤一步完成, 使得样品的预处理变得非常简单, 同时避免了样品均化、转溶和乳化带来的损失, 大大提高了方法的准确度和精密度。

在样品前处理方面, 目前国内对基质固相分散的研究不少^[2-7], 用于罗汉果中的多种有机氯农药的分析尚未见报道。本文在借鉴前人工作的基础上^[8-12], 前处理过程采用弗罗里硅土与中性氧化铝作为基质固相分散剂, 建立罗汉果中六六六、滴滴涕有机氯农药的基质固相分散-气相色谱检测方法。

1 材料与方 法

1.1 仪器与设备

气相色谱仪-电子捕获检测器(GC-ECD): Agilent 7820GC-ECD, 配有G4513A自动进样器、分流/不分流进样口、毛细管色谱柱、HP-5(30 m × 0.32 mm, 0.25 μm)(美国Agilent公司); SUPELCO 12孔固相萃取仪(美国SUPELCO公司); RE-52A旋转蒸发仪(上海亚荣生化仪器厂); 电热恒温干燥箱(上海浦东荣丰科学仪器有限公司); 分析天平(德国Sartorius公司); 移液枪(BIOHIT); 粉碎机(天津市泰斯特仪器有限公司); 10 mL针筒注射器(湖南平安医疗器械有限公司); 0.45 μm针头过滤器(岛津技逊(上海)商贸有限公司)。

1.2 试剂与材料

弗罗里硅土: 60~100目, 柱层析用(国药集团化学试剂有限公司), 使用前经650℃灼烧4h, 冷却至130℃过夜, 再冷却至室温加水5%, 过夜, 保持于干燥器中; 中性氧化铝: 100~200目, 柱层析用(国药集团化学试剂有限公司), 使用前在130℃条件下活化12h, 存放于干燥器中; 正己烷(色谱纯, 美国TEDIA公司); 乙酸乙酯(分析纯天津市光复精细化工研究所); 无水硫酸钠(分析纯, 广东汕头西陇化工厂) 农药标准品: -666、-666、-666、-666, *p,p'*-DDE、*p,p'*-DDD、*o,p'*-DDT、*p,p'*-DDT 50 μg/mL, 购自中国计量科学院, 用正己烷溶解配制成分别含-666、-666、-666、-666、*p,p'*-DDE、*p,p'*-DDD、*o,p'*-DDT 1.0 μg/mL(含*p,p'*-DDT 2.0 μg/mL)的混合标准储备液, 贮存于冰箱中备用。

1.3 样品前处理

取约200g罗汉果(桂林中族中药有限公司提供, 干果)在粉碎机进行粉碎。准确称取(精确至0.001g)2.0g弗罗里硅土固相填料于研钵中, 加入1.0g粉碎后的罗汉果样品于研钵中, 充分研磨至罗汉果样品均匀分布在弗罗里硅土中, 直至看不到颗粒状样品, 待装柱。

取10mL注射器, 下端放一滤纸片, 依次加入约1cm高的无水硫酸钠、0.5g中性氧化铝、上述混合样品、1cm高的无水硫酸钠, 上端再放一滤纸片, 用活塞适度压实样品。用20mL正己烷-乙酸乙酯(95/5, v/v)洗脱, 鸡心瓶接收, 40℃旋转蒸发至约2mL, 氮气吹干, 用1mL正己烷溶解定容。经0.45 μm针头过滤器滤至1mL进样瓶, 保存于冰箱中, 待测定。

1.4 色谱条件

载气: 99.999%氮气, 流速1.0 mL/min; 进样口温度: 250℃, 不分流进样1mL; 检测器温度: 280℃; 柱温箱初始温度50℃, 保持1min, 以25℃/min升温至200℃, 再以3℃/min升温到230℃, 保持5min, 最后以25℃/min升温至260℃, 保持2min。

2 结果与讨论

2.1 基质固相分散剂及洗脱剂

根据前人所作的工作^[8-12]以及公开文献^[13], 本试验决定选用弗罗里硅土和中性氧化铝作为填料, 作为基质固相分散剂, 选用正己烷-乙酸乙酯(95

5 ,v/v)作为洗脱剂。

2.2 标准曲线

将标准储备液用正己烷梯度稀释成分别含 -666、 -666、 -666、 -666、 *p,p'*-DDE、 *p,p'*-DDD、 *o,p'*-DDT 0.01 mg/L (含 *p,p'*-DDT 0.02 mg/L)、 0.02 mg/L (含 *p,p'*-DDT 0.04 mg/L)、 0.05 mg/L (含 *p,p'*-DDT 0.1mg/L)、 0.1 mg/L (含 *p,p'*-DDT 0.2mg/L)、 0.25 mg/L (含 *p,p'*-DDT 0.5 mg/L)、 0.5 mg/L (含 *p,p'*-DDT 1.0 mg/L)的混合标准工作液, 以这六个浓度系列作标准曲线, 在上述色谱条件下, 以化合物色谱峰面积定量。以各组峰面积(*Y*)对质量浓度(*X*)进行做线性回归曲线, 见表 1。

2.3 有机氯农药样品以及标准色谱图

图 1 是空白样品的色谱图, 直接进行前处理, 然后进样分析, 此图用于说明前处理方法可以除去干扰物质。图 2 是八种有机氯农药的基质加标色谱图, 即将样品经过前处理后再加标准品, 这样可以消除

基质效应。图 3 是加标样品色谱图, 即在样品中加入标准品再进行样品前处理, 此图用于确定农药在前处理过程中损耗程度, 计算回收率。

2.4 回收率及检出限

对八种有机氯农药按照表 2 所示的浓度添加水平进行添加回收试验, 每个浓度水平做一个基质加标, 每批样品做一个空白, 做 5 次平行测定。利用保留时间定性, 采用峰面积外标法定量, 以基质加标进行校正, 消除基质影响, 计算回收率。检出限以 3 倍噪音计算, 最低检出量以 10 倍噪音计算。

回收率试验结果、检出限及最低检出量见表 2, 由表 2 可以看出, 在 3 个浓度水平上, 8 种有机氯农药的平均回收率都在 75.1%~112.4%之间, 相对标准偏差(RSD)为 2.1%~12.4%。以上对罗汉果中八种有机氯农药残留分析方法在线性关系、准确度、精密度、以及最低检出限等方法均能满足国内以及国际对农药残留分析质量控制要求^[13-15]。

表 1 八种有机氯农药的线性回归方程和相关系数

Table 1 Linear equations and relative coefficients of 8 organochlorine pesticides

序号	名称	保留时间(min)	线性回归方程	相关系数 R^2	线性范围 (mg/L)
1	-666	10.012	$Y = 3.2359e^{-6}X + 2.5695$	0.99986	0~0.5
2	-666	10.446	$Y = 8.0721e^{-6}X - 6.1791$	0.99679	0~0.5
3	-666	10.597	$Y = 4.7898e^{-6}X - 4.6398$	0.99934	0~0.5
4	-666	11.026	$Y = 1.9890e^{-6}X - 6.0863$	0.99774	0~0.5
5	<i>p,p'</i> -DDE	16.079	$Y = 3.7182e^{-6}X - 7.0521$	0.99914	0~0.5
6	<i>p,p'</i> -DDD	17.672	$Y = 2.8014e^{-6}X - 15.459$	0.99746	0~0.5
7	<i>o,p'</i> -DDT	17.828	$Y = 7.0163e^{-6}X - 4.49181$	0.99875	0~0.5
8	<i>p,p'</i> -DDT	19.378	$Y = 23.105e^{-5}X - 5.30229$	0.99184	0~1.0

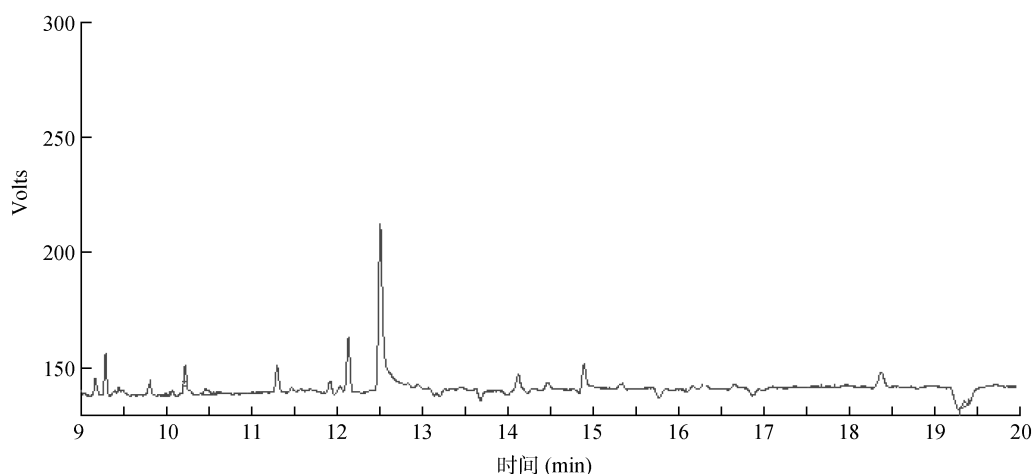


图 1 空白样品色谱图

Fig. 1 Chromatogram of a bland sample

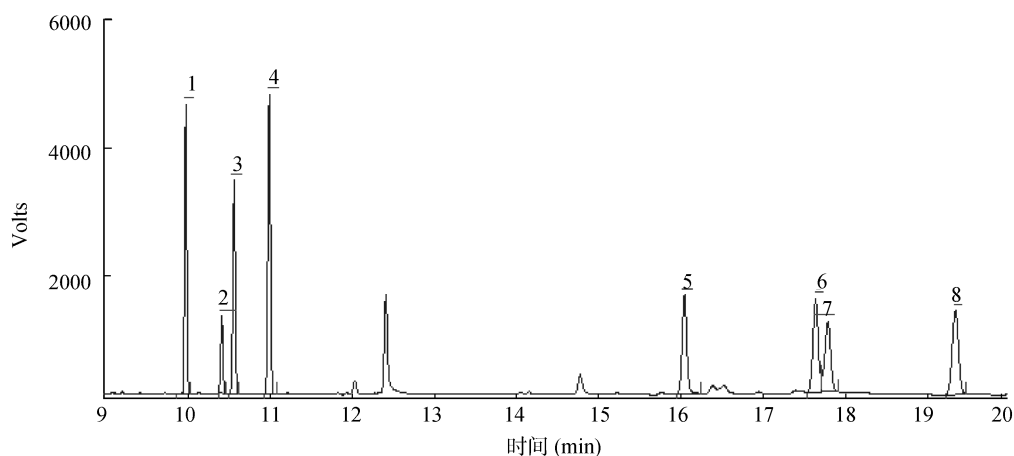


图2 八种有机氯农药的基质加标色谱图

Fig. 2 Chromatogram of 8 organochlorine pesticides standards in the blank sample

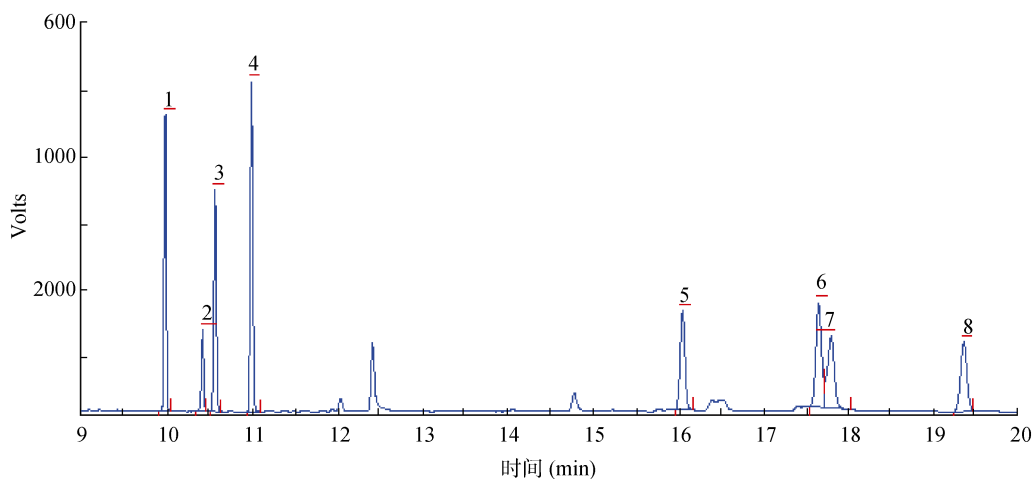
1. α -666; 2. β -666; 3. γ -666; 4. δ -666; 5. p,p' -DDE; 6. p,p' -DDD; 7. o,p' -DDT; 8. p,p' -DDT

图3 加标样品色谱图

Fig. 3 Chromatogram of 8 organochlorine pesticides in *Siraïtia grosvenori*. Fruits1. α -666; 2. β -666; 3. γ -666; 4. δ -666; 5. p,p' -DDE; 6. p,p' -DDD; 7. o,p' -DDT; 8. p,p' -DDT;

表2 罗汉果中有机氯农药的添加回收率、检出限(LOD)以及最低检出量(LOQ)(n=5)

Table 2 Average recoveries, limits of determination and limits of quantification of 8 organochlorine pesticides from *Siraïtia grosvenori*. Fruits (n=5)

名称	添加水平/(mg/kg)						MRL (最大残留限量)			
	0.05		0.1		0.5		LOD	LOQ	EU	Japan
	回收率 (%)	RSD (%)	回收率 (%)	RSD (%)	回收率 (%)	RSD (%)				
-666	96.5	7.5	112.4	3.8	105.4	2.1	0.3	1.0		
-666	89.3	9.8	93.4	3.0	87.6	3.5	0.8	2.7	0.3	0.2
-666	94.6	9.4	91.8	5.9	98.7	3.7	0.5	1.6		
-666	95.8	6.9	106.8	6.4	102.3	2.8	0.7	2.3		
p,p' -DDE	92.6	8.5	95.9	3.0	87.8	3.1	0.7	2.3		
p,p' -DDD	91.4	10.2	93.6	4.9	90.5	3.7	1.4	4.6	1.0	0.2
o,p' -DDT	86.5	9.3	90.4	6.8	88.6	5.4	3.1	10.3		
p,p' -DDT	75.1	12.4	82.5	9.9	78.7	7.7	7.3	24.3		

3 结 论

本文建立了以采用基质固相分散萃取技术作为前处理方法, 采用气相色谱-ECD 同时测定罗汉果中的六六六、滴滴涕有机氯农药的方法。与传统的国标方法^[16]相比, 基质固相分散提取方法集提取、过滤、净化等处理过程于一步完成, 样品操作简单、快速, 节省有机试剂的消耗, 减少了对环境的污染和人体的伤害。该方法作为罗汉果中的六六六、滴滴涕有机氯农药残留的快速检测新方法, 基本能满足国内以及国际对农药残留分析质量控制要求。

参考文献

- [1] 李俊锁, 邱月明, 王超. 兽药残留分析[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2002.
Li JS, Qiu YM, Wang C. Analysis of Veterinary Drug Residues [M]. Shanghai: Shanghai Science and Technology Publishing House, 2002.
- [2] 李建科, 吴丽华, 孔祥虹. 基质固相分散-气相色谱法测定苹果中的多种农药残留[J]. 中国农业科学, 2008, 41(6): 1767-1777.
Li JK, Wu LH, Kong XH. Matrix Solid-Phase Dispersion and Gas Chromatography determination of Multi-Residue Pesticides in Apples [J]. Sci Agric Sin, 2008, 41(6):1767-1777.
- [3] 朱学良, 戚向阳, 岳晶念, 等. 基质固相分散气相色谱电子捕获检测器测定葡萄酒中 5 中农药残留[J]. 分析化学研究简报, 2007, 35(2): 259-262.
Zhu XL, Qi XY, Yue JN, *et al.* Determination of 5 Pesticide Residues in Wine by Matrix Solid Phase Dispersion and Gas Chromatography Electron Capture Detector [J]. Chin J Anal Chem, 2007, 35(2): 259-262.
- [4] 吴春红, 聂继云, 李静, 等. 基质分散固相萃取-高效液相色谱法测定水果中的异菌脲残留量[J]. 食品科学分析检测, 2009, 30(14): 188-190.
Wu CH, Nie JY, Li J, *et al.* Combination of Matrix Solid Phase Dispersion Extraction with High Performance Liquid Chromatography for the Determination of Iprodione Residue in Fruits [J]. Food Sci, 2009, 30(14): 188-190.
- [5] 董娟, 罗小玲, 唐宗贵, 等. 基质固相分散-气相色谱法测定胡萝卜中百菌清和拟除虫菊酯类农药[J]. 食品科学分析检测, 2009, 30(8): 227-230.
Dong J, Luo XL, Tang ZG, *et al.* The matrix solid phase dispersion - gas chromatography for determination of pesticide residues Chlorothalonil and Pyrethroid in carrots[J]. Food Science, 2009, 30 (8) : 227-230.
- [6] 李晶, 董丰收, 刘新刚, 等. 基质固相分散萃取-气相色谱法同时检测人参中五氯硝基苯及其代谢物残留[J]. 农业环境科学学报, 2009, 28(1): 216-220
Li J, Dong FS, Liu XG, *et al.* Simultaneous Determination of Pentachloronitrobenzene Residue and Its Metabolites Pentachloroaniline and Pentachlorothioanisole in Ginseng Based on Matrix Solid Phase Dispersion and Gas Chromatography [J]. Journal of Agro-Environment Science, 2009, 28 (1) : 216-220.
- [7] 奉夏平, 陈卫国, 王志元, 等. 基质固相分散-气相色谱法同时测定蔬菜水果中多种农药残留[J]. 食品科学, 2005, 26(7): 194-197.
Feng XP, Chen WG Wang ZY, *et al.* Determination of Multi-pesticide Residues in Fruits and Vegetables by Matrix Solid-phase Disperse and Gas Chromatography [J]. Food Sci, 2005, 26 (7) : 194-197.
- [8] YC Ling, IP Huang. Multi-residue matrix solid-phase dispersion method for the determination of six synthetic pyrethroids in vegetables followed by gas chromatography with electron-capture detection [J]. J Chromatography A, 1995, 695: 75-82.
- [9] 杨容. 基质固相分散-高效液相色谱法测定小麦种痕量咪喃丹[J]. 河北大学学报: 自然科学版, 2003, 23(3): 269-271.
Yang R. Matrix Solid-phase Dispersion(MSPD)and High Performance Liquid Chromatographic Determination of Trace Carbofuran in Wheat [J]. J Hebei Univ: Nat Sci Ed, 2003, 23(3): 269-271.
- [10] 蒋迎, 郑平, 鲁成银. 基于基质固相分散萃取的茶中拟除虫菊酯多农残气相色谱测定[J]. 茶叶, 2007, 33(3): 147-149.
Jiang Y, Zheng P, Lu CY. Multi-residue determination of pyrethroid pesticides in teas by matrix solid phase disperse and gas chromatography [J]. J Tea, 2007, 33(3): 147-149.
- [11] 胡小钟, 储晓刚, 余建新, 等. 基质固相分散和气相色谱-质谱法测定苹果汁中 22 种有机氯农药和 15 种拟除虫菊酯农药的残留量[J]. 分析测试学报, 2004, 23(5): 38.
Hu XZ, Chu XG, Yu JX, *et al.* Determination of 22 Organochlorine and 15 Pyrethroid Pesticide Residues in Apple Juice by Matrix Solid Phase Dispersion and Gas Chromatography-Mass Spectrometry [J]. J Instrum Anal, 2004, 23(5): 38.
- [12] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局. 残留分析质量控制指南[M]. 北京: 中国国家质量监督检验检疫总局发布, 国质检食[2002]79号. 2002.
General Administration of Quality Supervision, Inspection and Quarantine of the People's Republic of China. Residual Analysis Quality Control Guide [M]. General Administration of Quality Supervision, Inspection and Quarantine of the People's Republic of China, [2002] No. 79. 2002.
- [13] 曹殿波. 中药和菊花茶中有机污染物残留分析 MSPD 前处理方法研究[D]. 中国农业大学, 2008.
Cao DB. Study of MSPD-preparation of Organic Contaminations

- Residue Analysis in Herbal Medicine and Chrysanthemum [D]. China of Agricultural University, 2008.
- [14] 庄无忌. 国际食品饲料中农药残留限量法规第二卷[M]. 北京: 化学工业出版社, 2010.
- Zhang WJ. The Global Regulations On Maximum Residue Limits (MRLs) For Pesticides In Foodstuffs International food, feed pesticide residue limits the second volume regulations [M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2010.
- [15] 庄无忌. 国际食品饲料中农药残留限量法规第三卷[M]. 北京: 化学工业出版社, 2010.
- Zhang WJ. The Global Regulations On Maximum Residue Limits (MRLs) For Pesticides In Foodstuffs International food, feed pesticide residue limits the third volume regulations [M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2010.
- [16] GB/T 5009.146-2008 植物性食品中有机氯和拟除虫菊酯类农药多种残留量的测定[S].
- GB/T 5009.146-2008 The analysis of Multi-organochlorine and pyrethroid pesticide residues in plant food[S].
- (责任编辑: 张宏梁)

作者简介



邓全道, 高级工程师, 主要研究方向为进出口食品、化妆品、矿产品检测。

E-mail: dengquandao@126.com