

文章编号 :1673-2383(2011)03-0059-05

## 基质固相分散萃取 - 液相色谱法测定小麦中 多种氨基甲酸酯农药残留的研究

吴丽华, 田忙雀, 杨勤元

(西安市粮油质量检验中心, 陕西 西安 710003)

**摘要** :研究了  $C_{18}$  基质固相分散萃取(MSPDE) ,高效液相色谱-柱后衍生-荧光检测器测定小麦中 6 种氨基甲酸酯农药的方法. 通过对色谱条件、基质固相分散材料的选择及其与样品的比例、洗脱条件以及加标回收率进行试验, 建立和优化了小麦中 6 种氨基甲酸酯农药的 MSPDE-HPLC-FLD 多残留分析方法. 结果显示, 该方法对小麦样品中 6 种氨基甲酸酯农药的回收率为 82.1%~94.0% ,变异系数 $\leq 3.54\%$  ,方法的最低检出限为 0.009 2~0.038 mg/kg. 研究证明, 基质固相分散萃取-液相色谱-柱后衍生方法简便、快速、准确、灵敏、节省样品和有机溶剂, 可满足小麦中多种氨基甲酸酯农药残留同时检测的需要.

**关键词** :小麦;基质固相分散萃取;液相色谱;柱后衍生;氨基甲酸酯农药

**中图分类号** :TS207.5+3

**文献标志码** :B

### 0 前言

随着农业科学技术的发展, 农药已成为防治病、虫害的主要手段, 广泛用于粮食、蔬菜、水果及经济作物上的害虫防治<sup>[1]</sup>. 自 1983 年我国停止生产六六六和滴滴涕以来, 有机氯农药已基本处于安全水平, 但作为取代有机氯农药的有机磷和氨基甲酸酯类农药其急性毒性及污染事件却呈急剧上升趋势<sup>[2-3]</sup>. 氨基甲酸酯类农药是应用较广泛的一类杀虫剂, 可用于杀虫、杀螨、杀菌、除草等方面, 由于氨基甲酸酯类农药毒性大, 在粮食、蔬菜中的残留对公众健康危害极大<sup>[4]</sup>. 因此, 开展氨基甲酸酯类农药残留量检测技术的研究至关重要.

MSPDE 方法最初是 1989 年由美国 Louisiana 州立大学的 Staren Barker 教授提出, 用于动物组织样品中抗生素等药物的提取和净化<sup>[5]</sup>. 近年来, MSPDE 在应用范围和使用技术上都有了很大的发展, 尤其是在农药残留分析方面<sup>[6-7]</sup>. MSPDE 作为一种萃取技术, 其基本操作是将试样直接与适量填料研磨、混匀得到半干状态的混合物并将其作为填料

装柱, 然后用不同的溶剂淋洗柱子, 将各种待测物洗脱下来. 目前, MSPDE 应用于水果蔬菜中农药残留检测的报道较多<sup>[8-9]</sup>, 针对于小麦中农药残留采用 MSPDE 方法的研究很少, 多残留分析的研究就更少. 因此, 作者采用基质固相分散萃取的前处理方法、液相色谱-柱后衍生-荧光检测器的检测手段研究了小麦中多种氨基甲酸酯农药的检测方法. 一是确定同时测定 6 种氨基甲酸酯农药的仪器条件, 二是实现对多种农药 MSPDE 高效洗提, 通过检测体系和条件优化, 达到高效、灵敏, 为该方法在粮油产品检测中的推广应用提供参考依据.

### 1 材料与方法

#### 1.1 材料与试剂

$C_{18}$  键合材料 :德国 POLYGOPRE100-50  $C_{18}$  CHARGE 10212042.

无水硫酸钠 :分析纯, 650  $^{\circ}\text{C}$  灼烧 4 h, 贮于密封瓶内备用; 衍生试剂、水解试剂、洗涤液等均由 PICKERING LABORATORIES, INC 提供; 正己烷、丙酮、二氯甲烷均为分析纯, 使用前经过重蒸; 甲醇为色谱纯.

农药标准品 :甲萘威、异丙威、残杀威、抗蚜威、涕灭威、灭多威, 规格 :100.0  $\mu\text{g/mL}$ 、1.0 mL/支, 标

收稿日期 :2011-03-05

作者简介 :吴丽华(1978-), 女, 陕西西安人, 工程师, 硕士, 从事粮油检验工作.

准物质均购于北京陆桥公司,由农业部环境保护监测研究所研制。

## 1.2 仪器与设备

Agilent Technologies 1200 Series 高效液相色谱仪;美国安捷伦公司;PINNACLE PCX 柱后衍生仪;PICKERING LABORATORIES,INC;液相色谱柱:CARBAMATE ANALYSIS C18 Sum, 4.6 mm× 250 mm, PICKERING LABORATORIES,INC;HVF—1000 型基质固相分散萃取压力装置;陕西奥联科技发展有限公司;RE—52AA 型旋转蒸发仪;上海跃进医疗器械厂;SHB— 型循环水式多用真空泵;郑州长城科工贸有限公司。

## 1.3 方法

### 1.3.1 色谱分析

#### 1.3.1.1 混标的配制

分别取 100 μg/mL 的涕灭威、残杀威、甲萘威、异丙威、抗蚜威和灭多威农药标准品 1.0 mL 于 25 mL 容量瓶中,用甲醇定容至刻度,配制成质量浓度为 4.0 μg/mL 的标准储备液。然后再配成 0.08、0.2、0.4、1.0、1.5、2.0 μg/mL 的混合标准工作液。

#### 1.3.1.2 高效液相色谱-荧光检测器测定

(1) 色谱条件:色谱柱:CARBAMATE ANALYSIS C18 sum 4.6 mm× 250 mm;检测器:荧光检测器;激发波长:330 nm,发射波长:465 nm;流动相:梯度见表 1;进样量:10 μL。

柱后衍生仪条件:反应器 1:0.5 mL,100 ℃;反应器 2:0.1 mL,室温;衍生试剂 1:0.05 mol/L 氢氧化钠;泵 1 流速:0.3 mL/min;衍生试剂 2:邻苯二甲醛(OPA);泵 2 流速:0.3 mL/min。

表 1 流动相梯度

时间/min	流路 A(甲醇)/%	流路 D(水)/%
0.00	15	85
1.00	15	85
44.00	75	25
44.10	100	0
45.00	15	85

(2) 色谱分析:准确吸取 10 μL 单标进样,确定各种农药的出峰时间。准确吸取 10 μL 样品经萃取后的浓缩液进样,记录色谱峰保留时间和峰高。再吸取 10 μL 混合标准溶液进样,记录保留时间和峰高,根据各组分在色谱图上的出峰时间进行定性,根据峰高用外标法定量。

#### 1.3.1.3 最小检出限

以仪器噪音 3 倍的色谱峰高作为最低检出限。

量指标,根据一定浓度标样的峰高、样品称样量、定容体积,确定方法的最低检出限。

### 1.3.2 C<sub>18</sub> 基质固相分散萃取方法

C<sub>18</sub> 材料使用前先进行活化和去杂。称取 20 g C<sub>18</sub> 装入层析柱中,分别用 20 mL 正己烷、20 mL 二氯甲烷和 20 mL 甲醇依次淋洗。取粉碎均匀的小麦样品 2.0 g,加水 2.0 mL,在研钵中混合均匀,然后再加 6.0 g C<sub>18</sub> 键合材料,充分研磨使待测样品均匀分布在键合材料中;在 25 mL 的针管下端铺上一层玻璃棉,加 3 cm 厚的无水硫酸钠,然后加上与吸附材料充分研磨的样品,上面再铺一层 1 cm 厚的无水硫酸钠,针管架在基质固相分散萃取压力装置上;用 10 mL 正己烷淋洗,弃去淋洗液,用丙酮:二氯甲烷(体积比为 3:7)溶液 15 mL 洗脱,收集洗脱液。于旋转蒸发仪上 38 ℃ 蒸发近干,氮气吹干,用 2.0 mL 甲醇定容,0.45 μm 有机滤头过滤,待测。

分别对样品与 C<sub>18</sub> 填料比例(1:1、1:2、1:3)<sup>[10-11]</sup>、洗脱剂(V(二氯甲烷)、V(丙酮):V(二氯甲烷)=2:8、V(丙酮):V(二氯甲烷)=3:7)、洗脱体积(10、15、20 mL)进行优化试验。

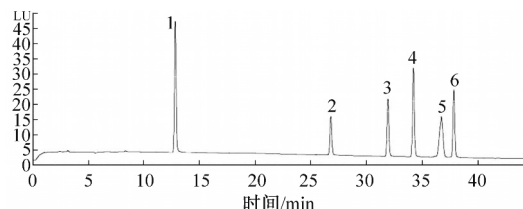
### 1.3.3 准确度和精密度试验

小麦样品中分别添加 0.08、0.4、1.0 μg/mL 3 个水平的农药混合标准溶液,按照上述 MSPDE 方法处理,按 1.3.1.2 的色谱条件测定。每个添加水平重复 3 次,计算回收率和变异系数。

## 2 结果与分析

### 2.1 氨基甲酸酯农药混合标准溶液的色谱图

在 1.3.1.2 的检测条件下 6 种氨基甲酸酯农药混合标样的色谱图见图 1。从图 1 可以看出,该色谱条件可以实现 6 种氨基甲酸酯农药的较好分离。



注:1- 灭多威(12.802 min) 2- 涕灭威(26.756 min) 3- 残杀威(31.882 min) 4- 甲萘威(34.168 min) 5- 抗蚜威(36.806 min) 6- 异丙威(37.793 min)。

图 1 氨基甲酸酯农药混合标准溶液色谱图(2.0 μg/mL)

## 2.2 MSPDE 前处理方法的优化

### 2.2.1 样品与填料比例试验

样品与填料比例试验结果见表 2。

表 2  $C_{18}$  材料与样品用量比例的选择

	填料:样品		
	2:1	3:1	4:1
回收率/%	67.3~79.6	83.1~97.4	74.1~83.5

从表 2 可以看出,当  $C_{18}$  材料与样品用量比例为 3:1 时,回收率较好。当  $C_{18}$  材料与样品用量比例为 2:1 时,填料的量不足以使样品基质完全分散,从而不利于待测农药从基质中分离;当填料为 4:1 时,农药的回收率偏低,因为填料量大,对农药的吸附较强,需要更多的溶剂才能被洗脱;所以选用  $C_{18}$  材料与样品用量比例为 3:1。

### 2.2.2 洗脱液的选择试验

3 种洗脱液的提取效果见表 3,由表 3 可以看出 3 号洗脱液的洗脱效果最好,各种农药的加标回收率在 81.3%~92.6%;1 号洗脱液试验,各种农药的回收率均较低;2 号洗脱液,抗蚜威、残杀威的回收率偏低。因此选用  $V$ (丙酮): $V$ (二氯甲烷)=3:7 作为洗脱液。

表 3 不同洗脱液对提取效果的影响 %

农药名称	3 种洗脱液的加标回收率/%		
	二氯甲烷	$V$ 丙酮: $V$ 二氯甲烷 =2:8	$V$ 丙酮: $V$ 二氯甲烷 =3:7
灭多威	41.9	78.9	92.6
涕灭威	42.2	82.4	86.2
残杀威	46.5	73.8	86.2
甲奈威	39.3	76.0	89.4
抗蚜威	42.3	71.9	81.3
异丙威	45.1	75.6	83.5

### 2.2.3 洗脱体积的选择

洗脱用量的试验结果见图 2。该方法处理的小麦样品及样品加标色谱图分别见图 3、图 4。从图 2 可以看出,选用 15 mL 的  $V$ (丙酮): $V$ (二氯甲烷)=3:7 洗脱效果最好。

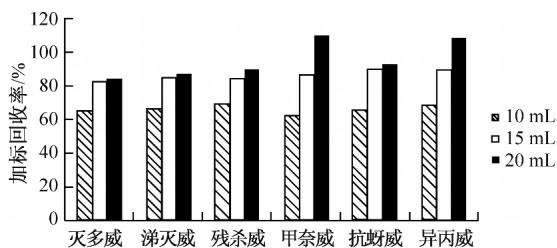


图 2 洗脱体积对加标回收率的影响

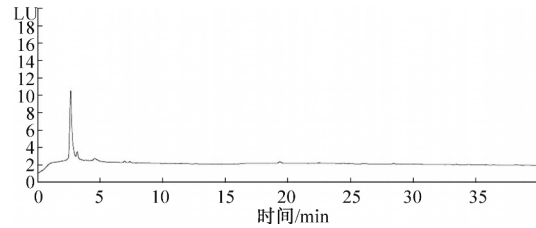
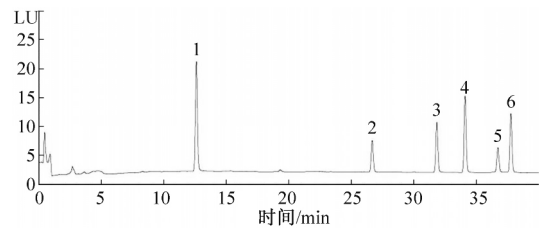


图 3 小麦样品的 HPLC 色谱图



注: 1-灭多威, 2-涕灭威, 3-残杀威, 4-甲奈威, 5-抗蚜威, 6-异丙威。

图 4 小麦样品加标色谱图

### 2.2.4 准确度和精密度试验

准确度与精密度试验结果见表 4。本方法对小麦样品中 6 种氨基甲酸酯农药的加标回收率为 82.1%~94.0%,变异系数 $\leq 3.54\%$ ,表明该方法的准确性好、精密度高,适合于小麦中氨基甲酸酯农药的测定。

表 4 方法的回收率和变异系数 %

农药	0.08 $\mu\text{g/mL}$		0.4 $\mu\text{g/mL}$		1.0 $\mu\text{g/mL}$	
	回收率	变异系数	回收率	变异系数	回收率	变异系数
灭多威	91.5	2.21	92.3	2.19	94.0	2.31
涕灭威	88.6	2.72	90.3	2.45	89.9	2.67
残杀威	83.7	2.38	86.5	2.56	83.5	3.01
甲奈威	86.7	2.89	87.5	2.95	88.6	2.67
抗蚜威	84.9	3.54	82.1	3.18	83.4	3.15
异丙威	87.2	2.64	86.8	2.59	88.7	3.06

### 2.2.5 线性关系和最低检出限

各种氨基甲酸酯农药的线性回归方程及方法的最低检出限见表 5。由表 5 可以看出,该方法线性好,灵敏度高,对 6 种农药的最低检出限范围为 0.009 2~0.038  $\text{mg/kg}$ ,均低于国际/国内的 MRL 值。

表 5 线性方程和最低检出限

农药	线性回归方程	相关系数 $r^2$	最小检出限	最高残留限量
			LOD( $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ )	MRL( $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ )
灭多威	$Y=220.65x+5.4005$	0.9997	0.0092	0.2
涕灭威	$Y=71.426x+1.0373$	0.9978	0.028	0.05
残杀威	$Y=101.15x+1.1863$	0.9986	0.018	0.05
甲奈威	$Y=161.45x+5.508$	0.9980	0.012	3.0
抗蚜威	$Y=65.865x+3.8534$	0.9984	0.038	0.05
异丙威	$Y=123.13x+0.569$	0.9996	0.016	0.4

### 3 讨论

#### 3.1 农药残留前处理方法的选择

在农药残留分析中,样品前处理是一个十分重要的步骤。目前,在农药残留分析中常用的前处理方法有液液萃取法和固相萃取法<sup>[12-13]</sup>。液液萃取法一般还需进行层析柱净化,前处理方法比较复杂;固相萃取法操作较简单而且净化效果好,但是固相萃取柱比较昂贵,成本较高。MSPDE 是近年来兴起的一种新的前处理方法,MSPDE 浓缩了传统样品前处理中所需的样品均化、组织细胞裂解、提取、净化等过程,是简单高效的提取净化方法。作者在考虑到传统的萃取方法和 MSPDE 优缺点的基础上,尝试一种更加方便效果又好的前处理方法,该方法比较适合于含少量水分样品的分析,但是存储小麦样品水分含量太低,不利于 C<sub>18</sub> 键合材料的吸附,所以要先添加适量的水润湿,然后再与 C<sub>18</sub> 键合材料进行研磨,对于其他粮食样品,根据其水分含量,对加水量进行适当调整也可采用该方法。本试验与李建科等<sup>[11]</sup>采用 florisil MSPDE 前处理 16 种有机磷、14 种有机氯和 5 种拟除虫菊酯农药,以及杨容<sup>[14]</sup>采用 C<sub>18</sub> 前处理小麦中的呋喃丹同样取得较好结果。

#### 3.2 检测手段的选择

目前,关于氨基甲酸酯农药的检测方法很多,GB/T 5009.104-2003 中采用气相色谱火焰热离子检测器测定植物性食品中速灭威、异丙威、残杀威、克百威、抗蚜威和甲萘威的残留量<sup>[15]</sup>;出入境检验检疫局行业标准 SN/T 1017.7-2002 采用气相色谱法配氮磷检测器检测出口粮谷中涕灭威、西维因、杀线威、恶虫威、抗蚜威的残留量<sup>[16]</sup>,但是由于气相色谱法只适用于易挥发物质的检测,所以这些方法检测的农药种类仍较少。张帆等<sup>[17]</sup>采用高效液相色谱柱串联质谱技术实现了 20 种氨基甲酸酯农药的同时检测,但是液相色谱-质谱联用仪器比较昂贵,较难普及。高效液相色谱柱后衍生法是利用氨基甲酸酯农药与衍生试剂发生反应后产生具有荧光的物质这一性质,采用荧光检测器进行定性定量测定,由于荧光反应的选择性强,该方法对于样品前处理的要求较低,毛秀红等<sup>[18]</sup>采用这种方法完成了中草药中 13 种氨基甲酸酯农药的检测,效果较好。本试验采用高效液相色谱柱后衍生技术检测了小麦中常见的 6 种氨基甲酸酯农药,也取得较好的效果,与目前的标准方法相比检出限低、分离度

好,前处理方法简单,检测结果准确度高。

#### 参考文献:

- [1] 华小梅,江希流.我国农药的生产使用现状及其对环境的影响[J].环境保护,1999(9):23-25.
- [2] 林玉琐,龚瑞忠,朱忠林.农药与生态环境保护[M].北京:化学工业出版社,2001:16-21.
- [3] 陈克毅,任素萍.关于发展绿色农产品的思考[J].农业质量标准,2003(6):28-30.
- [4] 陈燕.氨基甲酸酯类农药残留分析研究进展[J].安徽农学通报,2007,13(18):176-178.
- [5] Barker S A. Matrix solid-phase dispersion[J]. Journal of Chromatography A,2000,885(1-2):115-127.
- [6] Maria Kristenson E, Lourdes Ramos, Udo A Th. Brinkman. Recent advances in matrix solid-phase dispersion[J]. Trends in Analytical Chemistry,2006,25(2):96-102.
- [7] Barker S A. Applications of matrix solid-phase dispersion in food analysis[J]. Journal of Chromatography A,2000,880(1-2):63-68.
- [8] 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.
- [9] 杨容,刘海燕,鲁晓芳.基质固相分散分离-高效液相色谱法测定食物中痕量抗蚜威和双甲脒[J].河北农业大学学报,2003,4(26):114-117.
- [10] Monika Michel, Boguslaw Buszewski. Optimization of a matrix solid-phase dispersion method for the determination analysis of carbendazim residue in plant material[J]. Journal of Chromatography B,2004,800(1-2):309-314.
- [11] 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.
- [12] Yolanda Picó, Mónica Fernández, Maria Jose Ruiz, et al. Current trends in solid-phase-based extraction techniques for the determination of pesticides in food and environment[J].



- Journal of biochemical and biophysical methods, 2007, 70(2): 117-131.
- [13] 吴丽华,李建科. 固相萃取—气相色谱法在农药残留分析中的应用[J]. 粮油食品科技, 2004, 14(4): 57-58.
- [14] 杨容. 基质固相分散—高效液相色谱法测定小麦中的痕量呋喃丹[J]. 河北大学学报:自然科学版, 2003, 23(9): 269-271.
- [15] GB/T 5009.104-2003, 植物性食品中氨基甲酸酯类农药残留量的测定[S].
- [16] SN/T 1017.7-2002, 出口粮谷中涕灭威、西维因、杀线威、恶虫威、抗蚜威残留量检验方法[S].
- [17] 张帆,贾志强,张莹,等. 高效液相色谱—串联质谱测定食品中20种氨基甲酸酯类农药残留[J]. 色谱, 2010, 28(4): 348-355.
- [18] 毛秀红,苗水,陆继伟,等. 高效液相色谱—柱后衍生—荧光检测器测定中药材中13种氨基甲酸酯类农药残留[J]. 中成药, 2010, 22(3): 454-459.

## DETERMINATION OF CARBAMATE PESTICIDE RESIDUES IN WHEAT USING MATRIX SOLID-PHASE DISPERSION EXTRACTION AND LIQUID CHROMATOGRAPHY

WU Li-hua, TIAN Mang-que, YANG Qin-yuan

(Xi'an Grain & Oil Quality Inspection Center, Xi'an 710003, China)

**Abstract:** We studied a method for determining 6 kinds of carbamate pesticides in wheat using C<sub>18</sub> matrix solid-phase dispersion extraction (MSPDE), high performance liquid chromatography, post-column derivation technique and fluorescence detector. Through the tests of the chromatographic conditions, the selection of matrix solid-phase dispersion material and the ratio of matrix solid-phase dispersion to the sample, the elution conditions and the standard recovery, we established and optimized the MSPDE-HPLC-FLD multi-residue analysis method for determining 6 kinds of carbamate pesticides in wheat. The results showed that the yield of the 6 kinds of carbamate pesticides in wheat reached 82.1 % to 94.0 %, the coefficient of variation was equal to or less than 3.54 %, and the lowest detection limit was 0.009 2 to 0.038 0 mg/kg. It is testified that the method is simple, rapid, accurate, sensitive, and saving of samples and organic solvent, and can meet the requirement for simultaneously determining multiple kinds of carbamate pesticides in wheat.

**Key words:** wheat; matrix solid-phase dispersion extraction; high performance liquid chromatography; post-column derivation technique; carbamate pesticide