

## 分散固相萃取-气相色谱法测定水果中的六六六农药残留研究

朱然, 朱雅丽, 牛俊莉 (新疆林业科学院, 新疆乌鲁木齐 830000)

**摘要** [目的]建立采用多壁碳纳米管(MWCNTs)和乙二胺-N-丙基硅烷(PSA)为吸附剂的分散固相萃取(dSPE)净化、气相色谱测定水果中六六六残留量的方法。[方法]水果样品用乙腈提取,再加入NaCl和无水MgSO<sub>4</sub>液液分离,然后在样品提取液中加入无水MgSO<sub>4</sub>、PSA和多壁碳纳米管进行分散固相净化。[结果]所测定的4种六六六的质量浓度在0.005~0.200 mg/L范围内与其峰面积比呈线性关系,相关系数( $R^2$ )均大于0.998 8,方法对所测定的9种物质的检出限均小于1.000 mg/L,样品加标回收率为80%~110%,相对标准偏差( $n=6$ )为2.42%~5.99%。[结论]该方法有较好的灵敏度,能够满足样品测定的要求。

**关键词** 分散固相萃取;六六六;多壁碳纳米管

中图分类号 S481+.8 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2015)05-199-02

## Determination of Hexachlorocyclohexanes in Fruits by Dispersive Solid Phase Extraction and Gas Chromatography

ZHU Ran, ZHU Ya-li, NIU Jun-li (Xinjiang Academy of Forestry, Urumqi, Xinjiang 830000)

**Abstract** [Objective] A simple method for the determination of 4 Hexachlorocyclohexanes in fruits employing modified dispersive solid phase extraction (d-SPE) followed by gas chromatography-tan-dem ECD (GC-ECD) analysis was developed. [Method] For the fresh fruit samples, the pesticides were extracted by acetonitrile or acetonitrile, respectively, and then liquid-liquid partitioning formed by adding anhydrous MgSO<sub>4</sub> and NaCl; followed by a simple cleanup step using multi-walled carbon nanotubes (MWCNTs) and PSA for samples extraction as dispersive solid phase extraction (d-SPE). The pesticide was confirmed and determined by gas chromatography with ECD detector. [Result] The linear range were 0.005-0.200 mg/L ( $R^2 \geq 0.998 8$ ). The recoveries for all the pesticides studied were from 80% to 110% with relative standard deviation (RSD) from 2.42% to 5.99%. [Conclusion] The results showed that the method was simple and quick. It was suitable for the determination of 4 Hexachlorocyclohexanes in fruits.

**Key words** Dispersive solid phase extraction; BHC; MWCNTs

六六六(BHC)即六氯环己烷,曾是广泛使用和生产的有机氯类农药,具有稳定性强、不易分解的特点,大量使用除了会直接对农作物造成污染外,还具有高度持久性和生物蓄积性的特点。虽然我国已经禁止使用,但长期使用后它们可以通过长期的生物富集依然能够对人体健康和生态环境造成不利影响<sup>[1]</sup>。国标中规定六六六农药的残留限量为再残留限量<sup>[2]</sup>。再残留限量是指一些持久性农药虽已禁用,但还长期存在环境中,从而再次在食品中形成残留,为控制该类农药残留物对食品的污染而制定的其在食品中的残留限量即为再残留限量。

水果中本身含有糖类、氨基酸、蛋白质、色素、维生素、有机酸、无机盐等复杂的化学成分,对农药残留量的测定产生严重干扰。近年来,QuEChERS方法<sup>[3]</sup>以其准确、快速、简便、成本低廉的优点,迅速成为农药多残留的高效分析方法。目前,该方法已成为欧洲标准委员会认可的试验方法。该方法在实际应用中经过不断改良,主要用于各类食品、蔬菜、水果等样品的前处理。碳纳米管由于其具有纳米级别的中空管状结构、大的比表面积、某些表面功能团和疏水的表面能强烈吸附某些重金属离子和有机化合物,而成为一种新的固相萃取吸附剂广泛应用于分析领域<sup>[4-5]</sup>。近年来碳纳米管材料作为固相萃取填料在农兽药残留分析中有一定的应用<sup>[6-8]</sup>,但作为分散固相萃取剂的应用较少。为此,笔者通过对QuEChERS方法的改良和气相色谱电子捕获检测器建立了一种水果中六六六的残留量分析检测方法,以期为水果

中六六六残留检测提供借鉴。

## 1 材料与方法

## 1.1 材料

**1.1.1 仪器。**美国 Thermo Trace 1300 气相色谱仪(配有电子捕获检测器 ECD);超声波清洗器;热电低温高速离心机;涡旋混匀器。

**1.1.2 试剂。** $\alpha$ -BHC、 $\beta$ -BHC、 $\gamma$ -BHC、 $\delta$ -BHC 4 种标准品均购自农业部环境保护科研监测所。乙腈、丙酮、正己烷、乙酸乙酯均为色谱纯,无水硫酸镁(650 °C 灼烧 4 h)。PSA 和多壁碳纳米管均购自天津艾杰尔公司。氮气:纯度  $\geq 99.999\%$ 。

## 1.2 方法

**1.2.1 标准溶液配制。**分别移取 4 种六六六标准储备液 100  $\mu$ l 至 10 ml 容量瓶中,乙腈定容,配成 10 mg/L 混合标准溶液。用空白样品提取液配成不同浓度的基质匹配标准工作溶液,用于求取标准工作曲线。基质混合标准工作溶液应现用现配。空白样品为六六六未检出的水果样品。

**1.2.2 气相色谱条件。**色谱柱:美国 Thermo TR-5 毛细管柱(30.0 m  $\times$  0.32 mm, 0.25  $\mu$ m)。程序升温:100 °C 保持 1 min,以 10 °C/min 的速率升温至 150 °C,保持 1 min;以 5 °C/min 的速率升温至 270 °C,保持 5 min;以 280 °C 后运行 2 min。进样口温度:230 °C,进样量:1  $\mu$ l。氮气流量:1.2 ml/min。ECD 检测器温度:320 °C。

## 1.2.3 样品处理。

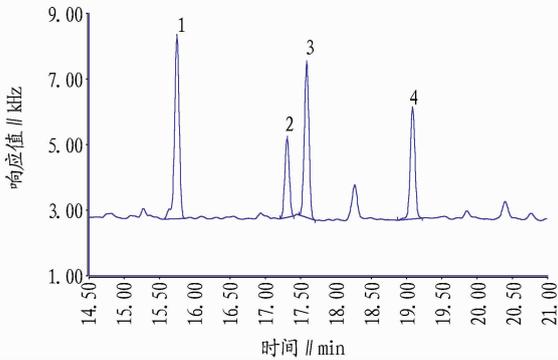
**1.2.3.1 提取。**称取新鲜水果样品约 10 g(精确到 0.000 1 g)置于 50 ml 离心管中,加 20 ml 乙腈,超声提取 0.5 h。加入 5 g 固体 NaCl,离心分层。

**1.2.3.2 净化。**取上清液 2 ml 于已加入 400 mg 无水 Mg-

SO<sub>4</sub>、50 mg PSA 和 60 mg 多壁碳纳米管的离心管中,涡旋 2 min,以 10 000 r/min 离心 5 min;取上清液过 0.22 μm 有机滤膜;取滤液于进样小瓶中,待测。

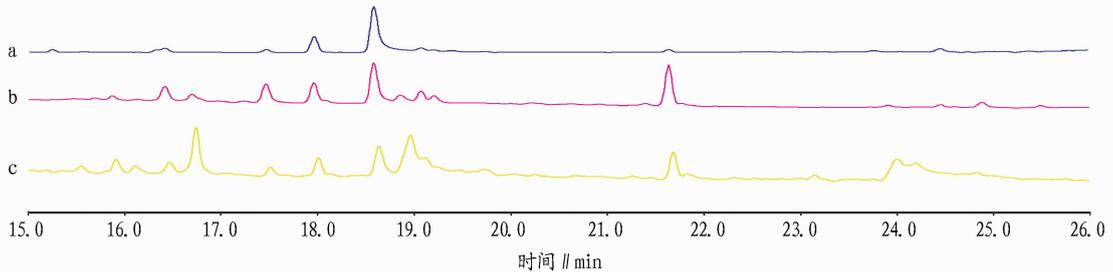
## 2 结果与分析

### 2.1 色谱行为 六六六的标准色谱见图 1。



注:1. α-BHC;2. β-BHC;3. γ-BHC;4. δ-BHC。

图1 TR-5 毛细管柱分离六六六的典型气相色谱



注:a. 多壁碳纳米管;b. PSA;c. 未处理。

图2 多壁碳纳米管和 PSA 对葡萄样品提取液净化效果对比色谱

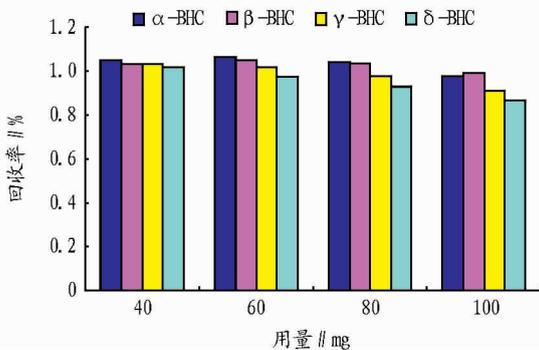


图3 不同多壁碳纳米管用量对六六六回收率的影响

**2.2 提取溶剂的选择** 水果基质复杂,试验选择乙腈、乙酸乙酯、正己烷、丙酮 4 种提取剂进行优化。结果表明,丙酮、乙酸乙酯对枸杞中的杂质提取较多,在色谱图上杂质峰干扰严重、基线较差,无法满足分析检测需求;正己烷和乙腈提取的样品杂质较少,但正己烷回收率较差;乙腈极性大、穿透性强,适合多农药残留的提取。因此,选择乙腈作为提取剂。

**2.3 QuEChERS 方法的优化** 对葡萄等水果样品的乙腈提取液用多壁碳纳米管替代 PSA 进行分散固相净化,其效果优于 PSA 净化的效果(图 2)。对多壁碳纳米管用量进行考察,发现用量为 60 mg 时均能得到较好的净化效果和回收率(图 3)。

PSA 有 2 个氨基,比 NH<sub>2</sub> 柱有更强的离子交换能力,能有效去除有机酸、金属离子和酚类等。试验进一步研究了 50 mg PSA 和 60 mg 多壁碳纳米管联合净化的效果,结果表明二者联合使用优于两者单独使用。故试验最终采用 50 mg PSA 和 60 mg 多壁碳纳米管联合净化的方法处理水果样品。

**2.4 工作曲线、线性范围与检出限** 用空白样品提取液配

成不同浓度的基质匹配标准工作溶液,用于作标准工作曲线,按“1.2.2”气相色谱条件对 4 种农药的标准溶液系列进行测定,4 种农药的质量浓度在一定范围内与其峰面积比成线性关系,线性回归方程、相关系数( $n=6$ )、线性范围、检出限结果见表 1。

**2.5 方法的回收率** 将 3 个不同质量浓度水平的标样添加到空白样品中( $n=6$ ),进行样品前处理和气相色谱分析,测定添加回收率。由表 2 可知,回收率在 80%~110%,平均回收率大于 89%,相对标准偏差(RSD)小于 6%,说明该方法准确可靠。

表1 六六六农药残留成分的线性范围与检出限

化合物	保留时间 min	线性回归方程	$R^2$	线性范围 ( $\rho$ )/mg/L	检出限 ( $\rho$ )/mg/L
α-BHC	15.763	$Y=0.067+16.848X$	0.9992	0.005~0.100	0.002
β-BHC	17.327	$Y=0.028+9.170X$	0.9988	0.005~0.100	0.002
γ-BHC	17.605	$Y=0.051+16.072X$	0.9990	0.005~0.100	0.002
δ-BHC	19.108	$Y=0.004+7.877X$	0.9991	0.005~0.100	0.002

**2.6 实际样品检测** 采用该研究所建立的方法对从市场上采购的葡萄、苹果、梨、桃、杏、柑橘等水果进行了分析检测,方法适用于大多数水果的分析,可应用于实际的监测分析。

## 3 结论

通过对 QuEChERS 方法的改良,以多壁碳纳米管和 PSA 混合使用进行样品净化,能有效去除水果中的基质干扰物,

(下转第 243 页)

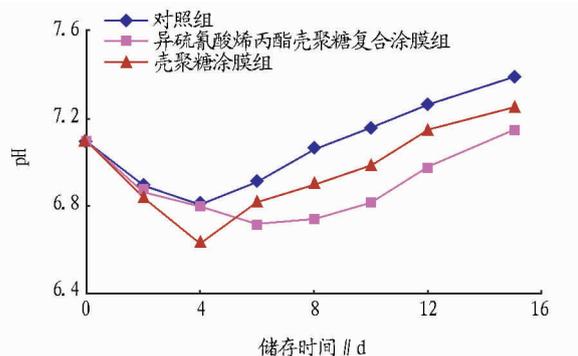


图4 鲫鱼 pH 变化

储存时间的增加,鱼肉感官品质逐渐下降。其中对照组下降最快,AITC壳聚糖复合涂膜组下降最缓慢。第8天以后,对照组鱼肉已为感官3级,不可再食用。而涂抹 AITC 壳聚糖复合膜的鱼体,感官1级可维持到储存的第12天,说明该复合膜对鲫鱼的保鲜有良好的作用。

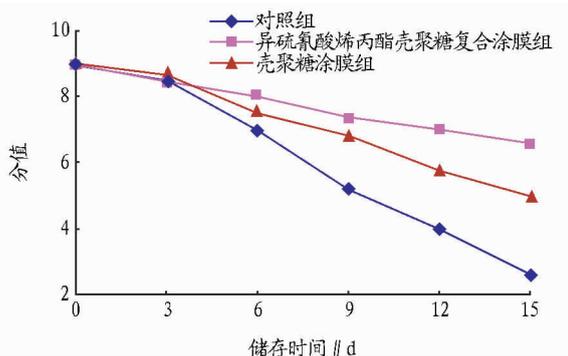


图5 鲫鱼感官评分

### 3 结论

笔者以 1.5% 的异硫氰酸烯丙酯(AITC)与 2% 的壳聚糖为原料制备复合涂膜处理鲫鱼,研究 AITC 壳聚糖复合涂膜对冷藏(4℃)过程中鲫鱼的保鲜效果。结果发现,AITC 壳聚糖复合涂膜对冷藏鲫鱼的保鲜效果显著优于不含 AITC 的壳聚糖涂膜及对照组,AITC壳聚糖复合涂膜处理后能够有

效地抑制鲫鱼的细菌菌落总数增长,延缓挥发性盐基氮(TVB-N)的产生,抑制脂肪氧化,控制鱼肉 pH 上升,保持鲫鱼感官品质。这表明 AITC 壳聚糖复合涂膜能有效延长鲫鱼的保鲜期,改善其食用品质和安全。

我国是人口大国,对淡水鱼的需求较大,然而由于其水分含量较高,捕捞后容易死亡以及本身表面带菌,因而在运输储存过程中容易腐败变质而降低其经济价值和食用价值。用人体易消化且本身有保鲜作用的壳聚糖作为基质,添加具有抑菌活性的异硫氰酸烯丙酯而成的涂抹液对鲫鱼有良好的延长保质期的作用,且壳聚糖来源丰富,实际应用经济可行,为开发水产品的新型保鲜方法提供了理论基础和依据。该研究对进一步促进鱼类生产、流通、消费和出口,保障鱼类食用安全,促进海洋产业和海洋经济发展具有重要的实际意义。

### 参考文献

- [1] 谢晶,施建兵. 茶多酚、溶菌酶及壳聚糖提高鲳鱼块的保鲜品质[J/OL]. (2013-07-26) <http://www.paper.edu.cn/html/releasepaper/2013/07/381/>.
- [2] 姜子涛. 芥末中的含硫化合物[J]. 食品饲料添加剂信息,1998(6):6-8.
- [3] 翟建华,王蓓,刘向欣,等. 异硫氰酸烯丙酯的常用制法及其主要功效[J]. 中国调味品,2008(4):20-24.
- [4] 蒋桂芳,宋力,黄俊生. 农业中壳聚糖的功能和应用研究[J]. 渝西学院学报:自然科学版,2005,4(3):57-60.
- [5] 张洪,王明力,毛玉涛. 壳聚糖复合涂膜在果蔬保鲜中的应用研究进展[J]. 贵州农业科学,2011,39(10):149-152.
- [6] 闫岩,王明力,陆雅丽. 壳聚糖膜在食品保鲜中的研究进展[J]. 贵州农业科学,2012,40(9):209-212.
- [7] OJAGHA S M, REZAEI M, RAZAVI S H, et al. Effect of chitosan coatings enriched with cinnamon oil on the quality of refrigerated rainbow trout [J]. Food Chemistry, 2010, 120:193-198.
- [8] 刘秀梅,卢行安,刘中学,等. GB/T 4789.2-2008 食品卫生微生物学检验-菌落总数测定[S]. 北京:中国标准出版社,2009.
- [9] 中国水产科学研究院南海水产研究所. SC/T 3032-2007. 水产品中挥发性盐基氮的测定[S]. 北京:中国农业出版社,2007.
- [10] 熊光权,程薇,叶丽秀. 淡水鱼微冻保鲜技术研究[J]. 湖北农业科学,2007,46(6):992-995.
- [11] VIJJOEN H F, DEKOEK H L, WEBB E C. Consumer acceptability of dark firm and dry (DFD) and normal pH beef steaks[J]. Meat Science, 2002, 161:181-185.

(上接第 200 页)

提高了六六六提取效率和检测灵敏度,建立了一个便捷的净化处理方法,采用气相色谱电子捕获检测器测定,取得了较好的效果,实现了水果中六六六的残留量分析检测。方法简便、准确、重现性好,可用于实际样品分析。

表2 回收试验结果

农药	0.01 mg/L		0.02 mg/L		0.05 mg/L	
	平均回收率	RSD	平均回收率	RSD	平均回收率	RSD
α-BHC	95.9	5.15	96.4	2.42	96.7	2.90
β-BHC	92.2	5.95	96.0	3.52	89.1	5.16
δ-BHC	91.7	4.68	95.9	2.55	93.7	4.15
γ-BHC	91.5	4.32	101.0	5.99	89.2	5.96

### 参考文献

- [1] 刘明阳,刘建华,张馥,等. 我国有机氯污染物污染现状及监控对策

- [J]. 环境科学与技术,2004,27(3):108-111.
- [2] 陈小帆,荣晓东,何日荣,等. 国内外水果农药残留管理概况[J]. 植物保护,2006,32(6):18-21.
- [3] 刘亚伟,董一威,孙宝利,等. QuEChERS 在食品中农药多残留检测的应用研究进展[J]. 食品科学,2009,3(9):285-289.
- [4] 王宗花,罗国安. 碳纳米管在分析化学领域的研究进展[J]. 分析化学,2003,31(8):1004-1009.
- [5] 武春霞,王春,王志. 碳纳米管在分离科学中的应用研究进展[J]. 色谱,2011,29(1):6-14.
- [6] 李昌秀,谭伟,李杨梅,等. 多壁碳纳米管固相萃取-气相色谱法测定蔬菜中甲氧基农药的残留量[J]. 理化检验-化学分册,2013,49(6):709-712.
- [7] WANG L P, ZHAO H X, QIU Y M. Determination of four benzodiazepine residues in pork using multiwalled carbon nanotube solid-phase extraction and gas chromatography-mass spectrometry[J]. Journal of Chromatography A Volume, 2006, 1136:99-105.
- [8] RAVELO-PÉREZ L M, HERNÁNDEZ-BORGES. Multi-walled carbon nanotubes as efficient solid-phase extraction materials of organophosphorus pesticides from apple, grape, orange and pineapple fruit juices[J]. Journal of Chromatography A Volume, 2008, 1211:33-42.