应用笔记:使用枪头式分散固相微萃取柱分析高脂肪含量食品中的农药残留

产品:DPX-WAX （1ml, TA）

引言

通常高脂肪含量食品中农药的分析需要大量时间精力，且样品提取物中的高含量脂肪酸会大大干扰色谱分析。

目前，一种快速分析果蔬中农药的QuEChERS （快速，简单，廉价，高效，耐用，安全）方法已经面世。该方法选用PSA（伯仲胺）树脂去除乙腈提取物中的脂肪酸和水分。近期出现一款基于QuEChERS方法的枪头式分散固相微萃取（DPX）柱，称为DPX-Q。该产品可以实现样品自动提取，省略离心步骤，且树脂经过过滤，溶液中不含颗粒杂质。

QuEChERS和DPX-Q产品中使用的PSA树脂可有效去除果蔬提取物中的脂肪酸，但对高脂样品（如谷物和豆类）中脂肪酸的去除能力有限。之前的研究发现多聚氨基酸树脂的载量约为PSA的5倍，去除高脂样品中脂肪酸的效率更高。本文研究了DPX层析柱产品中不同树脂去除乙腈提取物中脂肪酸的能力。结果表明，一种全新的"清洁层析柱"，使用弱阴离子交换（WAX）树脂，可在60秒内，自动、高效地从高达50%脂肪含量的样品提取物中去除脂肪酸。

实验部分

样品制备:

取50 g样品（玉米松饼或可可豆），溶于去离子水，加入100 mL 85%乙腈，混匀。随后将溶液真空抽滤。

玉米松饼样品：取1 mL样品乙腈溶液转移至干净的试管中，加入OC和OP农药。随后加入0.5 mL NaCl溶液，涡旋混匀。离心后，将上层有机相转移至干净的试管中，准备进行DPX萃取。

可可豆样品：取0.2 mL乙腈溶液转移至干净的试管中，加入OC和OP农药。随后加入0.1 mL乙腈和0.5 mL NaCl溶液，涡旋混匀。离心后，将上层有机相转移至清洁的试管中，准备进行DPX萃取。

DPX萃取：

利用DPX tip将样品溶液吸入和打出两次，并吸入少量空气使溶液与树脂充分混合。最后的洗脱液直接转移至GC进样瓶。另取0.2 mL乙腈从DPX tip顶端加入，并洗脱至同一个GC进样瓶。目的是洗脱残留分析物，提高回收率。最后进样GC/MS分析。该过程使用双轨MPS-2自动完成(见下面的仪器)。

仪器：

GC色谱仪：Agilent 6890，MACH系统（GERSTEL，配备5 m RTX-5色谱柱, ID=0.18 mm，滤膜0.2 µm），FID检测器。

5975 MSD （Agilent Technologies）和PTV进气口（CIS 4, GERSTEL Inc），双轨MPS 2准备室（GERSTEL）。使用2.5 mL和100 µL进样针分别进行DPX自动提取和进样。

带转接头1 mL DPX tips购自DPX Labs，LLC（Columbia，SC）。本文研究了含有三种不同树脂的DPX tips：反相苯乙烯二乙烯基苯（DPX- RP），多聚氨基酸（DPX- PA）和弱阴离子交换树脂（DPX-WAX）。

分析条件

程序升温： Solvent Vent, 150 mL/min 50° C ; 12° C/sec, 280° C (3 min)

色谱柱：30 m RTX-5ms （Restek）di=0.25 mm, df=0.2 µm

载气：He;Pi=7.47 psi，恒定流速=1.0 mL/min

柱温：60°C （2 min）, 20°C/min, 280°C （5 min）

结果和讨论

本文研究了含有三种不同树脂的DPX tips，用于去除脂肪食品的乙腈提取物中的脂肪酸：反相苯乙烯二乙烯基苯（DPX- RP），多聚氨基酸（DPX- PA）和弱阴离子交换树脂（DPX-WAX）。

图1显示了使用清洁层析柱去除脂肪酸的结果。脂肪酸去除率是通过计算层析柱处理前后脂肪酸峰面积确定。DPX-WAX性能优于DPX-RP和DPX-PA。因此，后续研究均使用DPX-WAX作为清洁层析柱。图2为玉米松饼的DPX-WAX处理组和对照组的GC结果图。DPX-WAX处理后脂肪酸完全去除。图3为玉米松饼DPX-WAX提取和清除的GC/MS结果图。结果显示干扰较少，最强峰为脂肪酸酯。

图4和5为玉米松饼基质经DPX-WAX提取和清除OC和OP农药（含量0.5 ppm）残留的GC/MS结果图。回收率和% RSDs见表1和表2。结果显示，回收率大于70%且重复性好。图6和图7显示了玉米松饼经DPX-WAX提取和清除OC和OP农药（含量50 ppb）残留的GC/MS结果图（选择性离子监测，SIM）。

可可豆样品应用同方法检测。因脂肪酸含量较多，样品量大大减少 (如实验部分所示)。图8为可可豆经DPX-WAX处理后的的GC/MS结果图（全扫描）。结果显示，高浓度的咖啡因和可可碱导致背景干扰较多。脂肪酸几乎完全去除。OP农残的结果如表3所示。

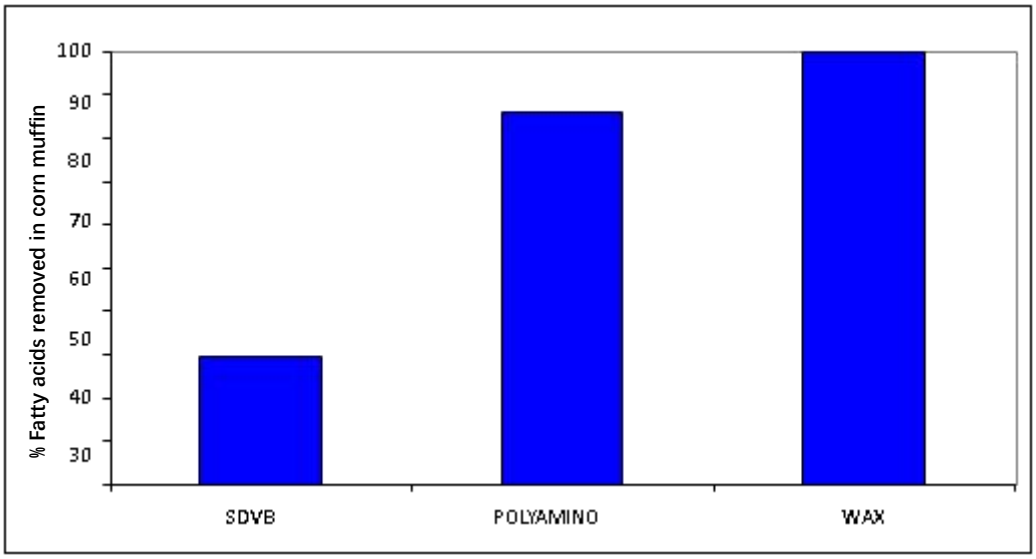


图1. 使用不同的树脂从样品乙腈提取物中去除脂肪酸。结果显示，弱阴离子交换（WAX）树脂去除脂肪酸的效果最好。

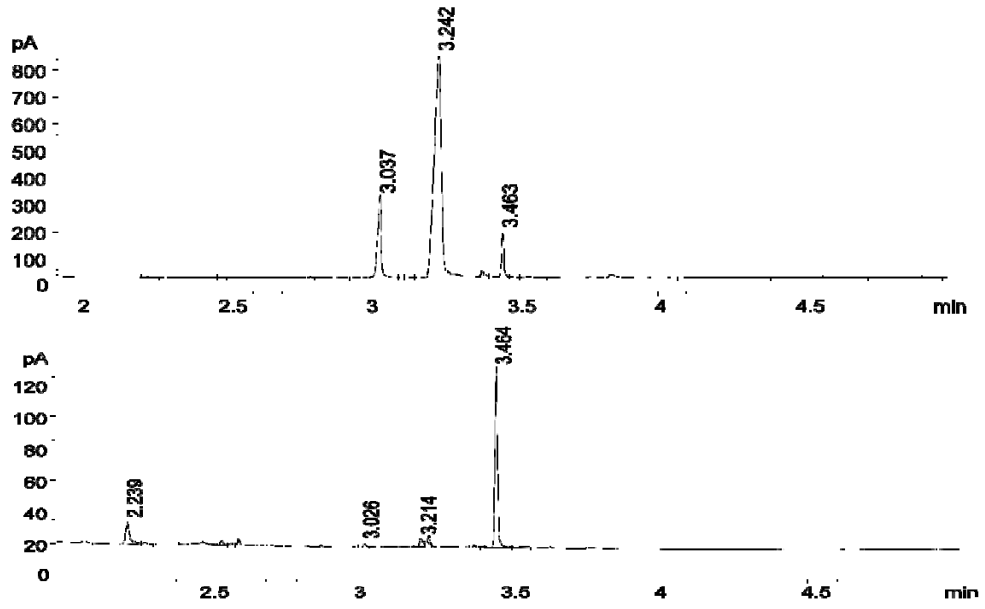


图2. 玉米松饼提取物经DPX-WAX处理前（上）后（下）的GC结果图(MACH GC- fid记录结果)。在下图中，3.242分和3.037分的脂肪酸峰消失。在3.46分出现一个较小的峰，可能是甲酯。

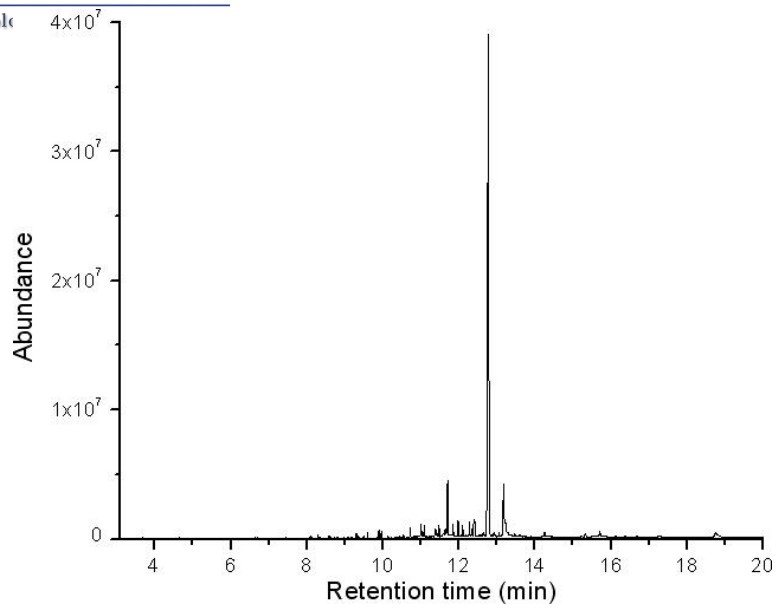


图3. 玉米松饼提取物（OC含量0.5 ppm ）经DPX-WAX处理后的GC/MS结果图（全扫描）。在约11.9、12.9和13.2分出现脂肪酸甲酯，且脂肪酸消失。

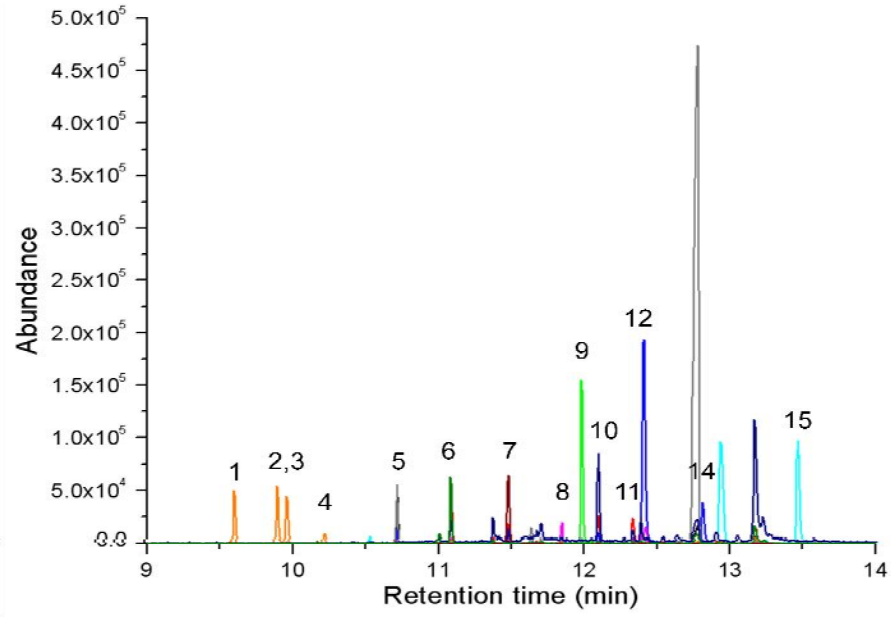


图4. 玉米松饼提取物（OC含量0.5 ppm）经DPX-WAX处理后的萃取离子色谱图。(图中没有显示13号化合物，因其背景干扰较大，掩盖了图中其他几种化合物的显示)。

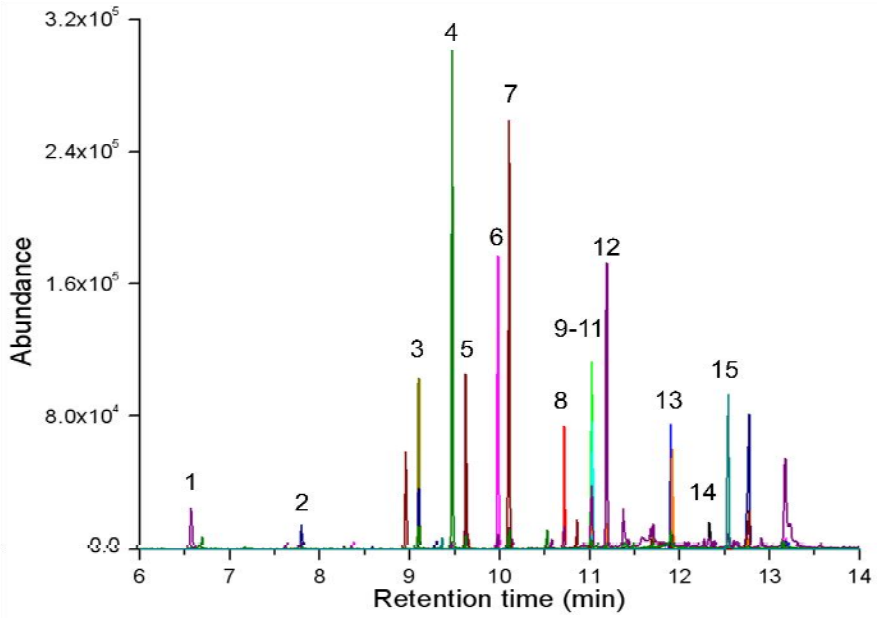


图5. 玉米松饼提取物（OP含量0.5 ppm）经DPX-WAX处理后的萃取离子色谱图。

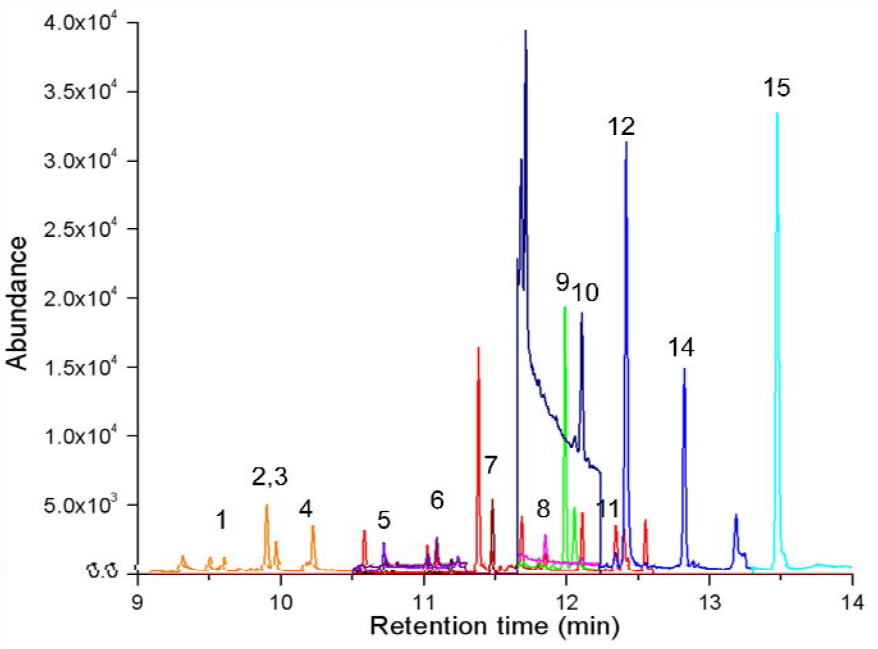


图6. 玉米松饼提取物（OC含量50 ppb）经DPX-WAX处理后的SIM色谱图。（图中没有显示13号化合物，因其背景干扰较大，掩盖了图中其他几种化合物的显示)。

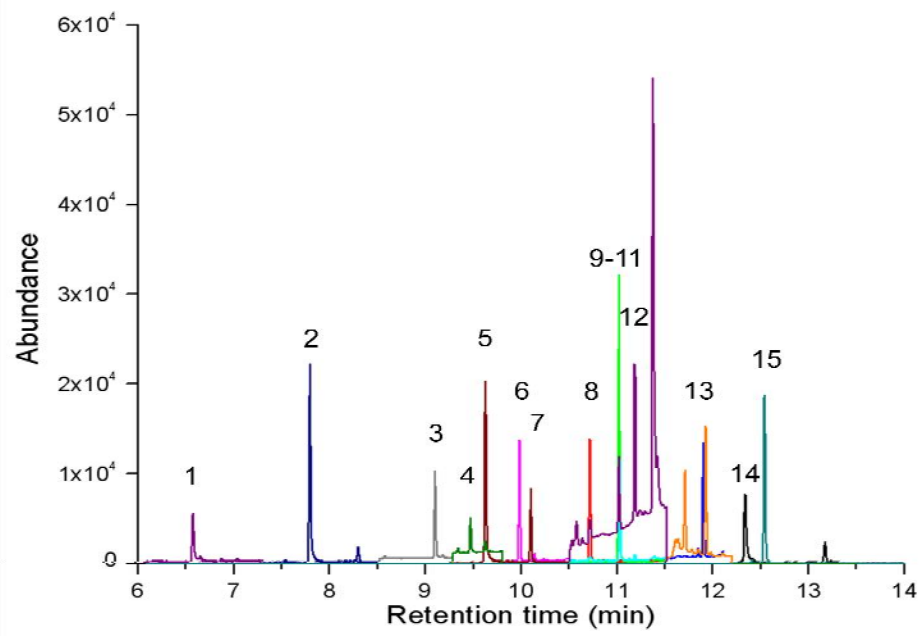


图7. 玉米松饼提取物（OP含量50 ppb）经DPX-WAX处理后的SIM色谱图。

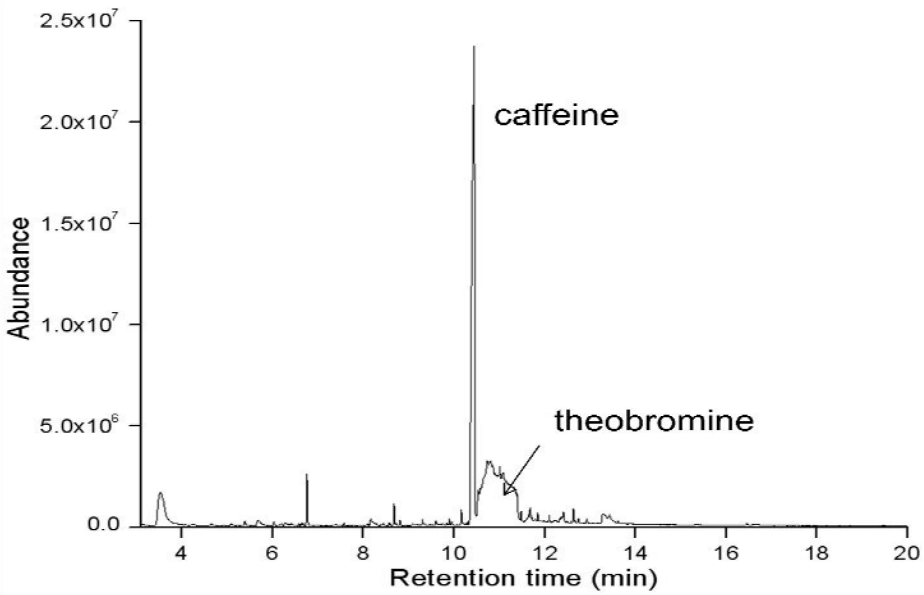


图8. 可可豆提取物经DPX-WAX处理后的GC/MS结果图（全扫描）。

表1. 玉米松饼经DPX-WAX处理后OC残留的结果。

OC Pesticide	Ret. Time	Ion	% Recov.	% RSD
1 α-六六六	6.574	181	82.46	5.01
2 β-六六六	7.801	181	88.37	4.91
3 γ-六六六	9.102	181	85.44	1.22
4 δ-六六六	9.473	181	98.54	14.05
5 七氯	9.626	100	82.67	5.02
6 二氯丙酸	9.985	66	87.69	9.82
7 环氧七氯	10.105	353	88.50	4.85
8 p,p'-滴滴伊	10.721	246	87.74	4.17
9 α-硫丹	11.023	195	91.84	5.89
10 狄氏剂	11.023	79	92.83	4.08
11 异狄氏剂	11.034	263	93.01	6.70
12 p,p'-滴滴滴	11.192	235	88.10	2.86
13 异狄氏剂醛	11.91	67	104.24	4.91
14 p,p'-滴滴涕	12.33	235	76.08	5.78
15 甲氧滴滴涕	12.54	227	84.08	6.38

表2. 玉米松饼经DPX-WAX处理后OP残留的结果。

OP Pesticide	Ret. Time	Ion	% Recov.	% RSD
1 敌敌畏	6.574	109	app 120	NA
2 速灭磷	7.801	127	app 120	NA
3 灭线磷	9.102	158	97.45	10.04
4 甲拌磷	9.473	75	78.42	13.88
5 内吸磷-S	9.626	88	86.61	7.22
6 二嗪磷	9.985	179	89.48	10.65
7 乙拌磷	10.105	88	84.43	12.00
8 皮蝇磷	10.721	285	116.64	9.08
9 甲基对硫磷	11.023	109	92.22	9.28
10 倍硫磷	11.023	278	82.47	5.37
11 毒死蜱	11.034	197	91.61	5.63
12 毒壤磷	11.192	109	83.93	8.09
13 丙硫磷	11.91	267	83.70	6.35
14 脱叶亚麟	11.92	169	63.40	5.57
15 苯胺磷	12.33	293	96.51	19.20
16 硫丙磷	12.54	322	82.20	5.41

表3. 可可豆经DPX-WAX处理后OP残留的结果。

OP Pesticide	Ret. Time	Ion	% Recov.	% RSD
1 敌敌畏	6.574	185	75.77	14.66
2 速灭磷	7.801	127	71.33	11.67
3 灭线磷	9.102	158	106.24	16.75
4 甲拌磷	9.473	75	115.45	7.01
5 内吸磷-S	9.626	88	108.51	4.78
6 二嗪磷	9.985	152	117.55	7.33
7 乙拌磷	10.105	88	114.97	7.07
8 皮蝇磷	10.721	285	97.92	8.57
9 甲基对硫磷	11.023	125	109.93	5.08
10 倍硫磷	11.023	278	99.12	5.08
11 毒死蜱	11.034	197	108.05	2.11
12 毒壤磷	11.192	269	108.28	5.99
13 丙硫磷	11.91	267	105.91	4.44
14 脱叶亚麟	11.92	169	106.75	4.30
15 苯胺磷	12.33	293	72.43	17.43
16 硫丙磷	12.54	322	93.64	23.29

结论

DPX-WAX枪头式分散固相微萃取柱提供了一种快速、灵敏的样品提取净化方法，用于高脂肪含量样品农残检测的前处理阶段。该方法省略溶剂蒸发步骤且使用溶剂较少。

参考文献

1. M. Anastassiades, S. J. Lehotay, D. Stajnbaher, and F. J. Schenck, J. AOAC Int. (2003) 86, 412.
2. W. E. Brewer, H. Guan, S. L. Morgan, S. T. Garris, and C. Craft, "Multi-residue pesticide analysis on incurred produce samples using variations of disposable pipette extraction", Florida Pesticide Workshop, July 2008, St. Pete Beach, FL.

致谢

感谢以下单位的支持:

- Dept. of Chemistry and Biochemistry, University of South Carolina, Columbia, SC.
- GERSTEL, Inc., Linthicum, MD.
- GERSTEL GmbH & Co. KG, Mulheim an der Ruhr, Germany.

无锡微色谱生物科技有限公司
地 址：江苏省江阴市月城镇北环路 19 号
电 话：17715681752
邮 箱：custserv@micro-sep.com

MicroSep Biotechnology LLC
ADD: 2411 Monroe ST, Columbia, SC, USA
Phone : 001-803-767-8196
Web: www.micro-sep.com