

果蔬中农药残留分析

重点：高重复性结果、减少样品制备时间



简介

水果和蔬菜中农药的分析在食品安全领域具有重要意义。为了确保有毒农药的水平在可安全摄入的低水平范围内，必须进行常规和全面的检测。

QuEChERS 方法（快速，简便，便宜，高效，坚固耐用和安全）是用来去除脂肪酸成分，而不是用来提取和分离农药。该方法的优点是综合性好，对几乎所有的农药都具有很高的回收率。这种方法的缺点是所得到的样品溶液相对“脏”，因此对原始方法进行了许多修改和变化。一些不同的方法包括使用分散管或色谱柱，还有一些使用石墨或其他添加剂（如 C18）。

本研究中，枪头式分散固相微萃取柱 XTR 技术用于从水果和蔬菜中固相提取农药。这些枪头包括松散或分散的吸附剂。通过样品吸打步骤混合样品溶液和枪头中的吸附剂。这种混合方式可增加提取效率和减少吸附剂的使用。用 5 mL XTR tips 内含反相（RP）吸附剂进行提取和色谱分析。

材料和方法

初始样品制备使用的方法与表 1 中概述的 QuEChERS 描述的方法相同。将样品与乙腈以 1:1 的比例“摇动”，以获得良好的灵敏度。加盐将乙腈层和水层分离。分散枪头式提取法用 RP 吸附剂分离出感兴趣的分析物。加入水和盐，以降低有机溶剂的浓度。

通过吸打步骤来混合吸附剂和样品溶液以提高提取效率，同时降低吸附剂的使用量。低量吸附剂可用更少的溶液进行提取，无需溶剂蒸发，从而减少样品制备需要的时间。用 5 mL Pneumatic Extractor 提取样品的方法见表 2。



图 1. DPX 5 mL Pneumatic Extractor 是一种注射器装置，通过正负压来用 5 mL tips 吸打溶液

用 Agilent Technologies GC/MS 6890 GC 和 5972A MSD (inert XL) 进行分析

仪器运行条件：

- GC 柱：30 m DB-1701 (J&W Scientific), 0.25 mm ID, df = 0.25um
- 载气：恒定流量为 1 mL/分钟
- 柱箱：初始温度为 80 °C，时间为 1 分钟，升温温度为 20 °C/分钟 至 300 °C，保持 7 分钟（运行 19 分钟）
- 进气温度：250 °C
- 进样：用 HP6890 系列进样器进样 2 μL

表 1. 样品制备

1	将15 g 混合样品（胡萝卜）和 15 mL 乙腈加入 50 mL 离心管中，加入 1.5 g NaCl 和 6.0 g MgSO ₄
2	加盖并用力摇动几分钟；静置大约 10 分钟，3000 rpm 离心 10 分钟
3	转移 1 mL 上清溶液到 5 mL Pneumatic Extractor 检测管中



表 2. 样品提取方法 - 因为吸附剂会吸附部分溶液，所以最终洗脱体积比提取中使用的量少

前处理	在 1 mL 样品溶液中加入 2.4 mL 去离子水和 0.8 mL 饱和氯化钠，涡旋混合
提取	- 使用 RP-XTR tips 吸取样品溶液和约 5 mL 空气混合。等待约 30 秒，分液 - 吸取 0.5 mL 去离子水 和约 3 mL 空气混合，等待 10 秒，排出废液
洗脱	- 取下注射器，在 Tip 顶部加入 0.7 mL 50/50 己烷-乙酸乙酯 - 重新连接注射器，并将洗脱液分配到另一个试管中。
转移	- 除去底层约 100 μL 水 - 加入 50 mL 外标品（甲基毒死蜱）
进样	将最终洗脱液（约 0.5 mL）转移到气相色谱小瓶中，盖盖并进样

表 3. 有机氯农药 SIM 质谱分析参数

	时间	农药	检测离子 (m/z)	Dwell (msec)
1	8.5	Aplha-BHC	181, 219, 111	30
2	9.20	Gamma-BHC, Beta-BHC, Heptachlor	100, 109, 181, 219, 237, 272	30
3	9.90	Delta-BHC, aldrin	66, 181, 109, 219, 293, 263	30
4	10.50	Heptachlor epoxide	81, 263, 353	30
5	11.0	Endosulfan I, 4,4'-DDE, Dieldrin	79, 81, 176, 195, 241, 246, 263, 318, 339	30
6	11.80	Endrin, 4,4'-DDD	81, 165, 235, 237, 263, 345	30
7	12.20	Endosulfan II, 4,4'-DDT	165, 170, 195, 199, 235, 237	30
8	12.60	Endrin aldehyde, Endosulfan sulfate	67, 237, 250, 272, 387, 345	30
9	13.50	Methoxychlor	227, 228, 346	30

表4. 有机磷农药 SIM 质谱分析参数

	时间	农药	检测离子 (m/z)	Dwell (msec)
1	5.40	Dichlorphos	79, 109, 185	30
2	6.80	Mevinphos	109, 127, 92	30
3	8.00	Ethoprophos	97, 139, 158	30
4	8.55	Phorate, Demeton-S, Diazinon	60, 75, 88, 121, 137, 152, 170, 179, 260	30
5	9.25	Disulfoton	88, 97, 274	30
6	9.80	Ronnel, Methyl parathion, Trichloronat, Chlorpyrifos	97, 109, 125, 197, 263, 269, 285, 287, 297, 314	30
7	10.50	Fenthion	109, 125, 278	30
8	10.90	Merphos, Tokuthion, Stirofos	57, 109, 113, 162, 169, 267, 314, 329, 331	30
9	12.00	Bolstar, Fensulfothion	139, 141, 156, 293, 322, 308	30
10	16.80	Coumaphos	109, 226, 362	30

结果

有机氯和有机磷农药的分析结果如图 2、图 3 所示，大多数农药的回收都在 100% 左右。通过使用己烷-乙酸乙酯进行洗脱，将水从洗脱液中除去（如常见的液-液萃取物）。当使用这种溶剂时，几乎没有显示出样品降解，这种方法非常适合于各种类型的检测器的气相色谱分析。溶剂交换和浓缩步骤都可以同时完成。在橙子和菠菜中也得到了相似的结果。该方法基质对回收率影响不大。

百菌清很难用 QuEChERS 方法进行分析，但枪头式分散固相微萃取管提取方法提供了高效和可重复的百菌清和反式氯菊酯的回收率（图 4）。百菌清的 LOD 小于 10 ppb，大约 50 个胡萝卜样品提取色谱图如图 5 所示。

极性有机磷农药的回收率较低。可根据农药的极性预测其回收率。图 6 显示了 OP 农药（胡萝卜或橙子）的回收率与其 log P 值的关系图。农药的极性由其 Kow 值表示，Kow 值与水中和 1-辛醇中的分配有关。请注意，只有极性很强的农药的回收率很低。

总结

该方法对水果和蔬菜中的大量农药的分析具有很好的可重复性和有效性。本研究提出了一种快速的农药综合筛选方法。分析的灵敏度非常好，通过使用更大的样品量和多次提取可以降低 LODs。

本方法不需要进行溶剂蒸发，只需要很少体积的有机溶剂，产生更少的废液，是一种非常环保的方法。

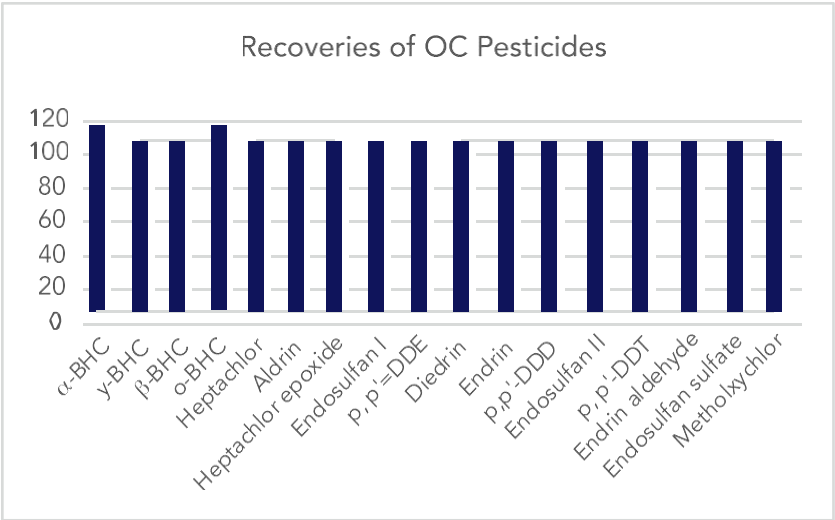


图 2. 从胡萝卜中提取的有机氯农药的统计结果

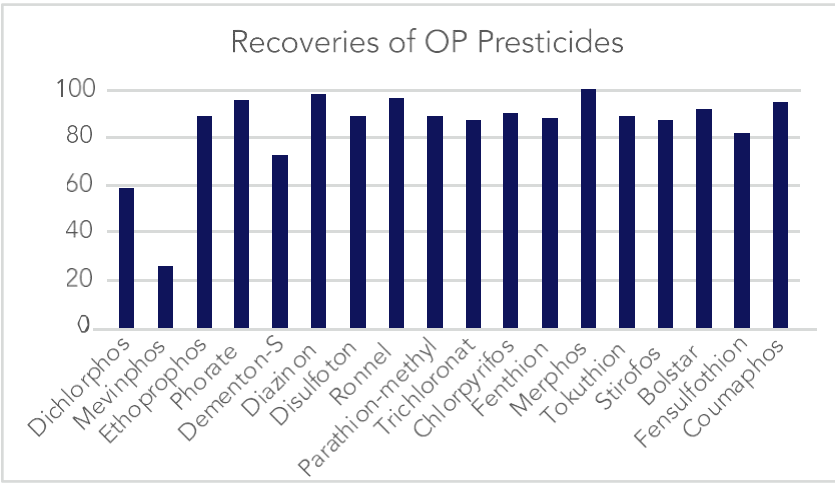


图 3. 从胡萝卜中提取的有机磷农药的统计结果

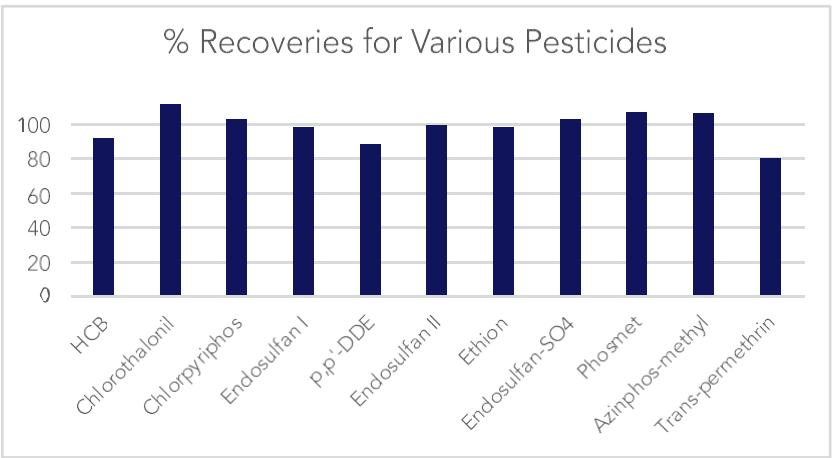


图 4. 各种农药的统计结果，包括百菌清

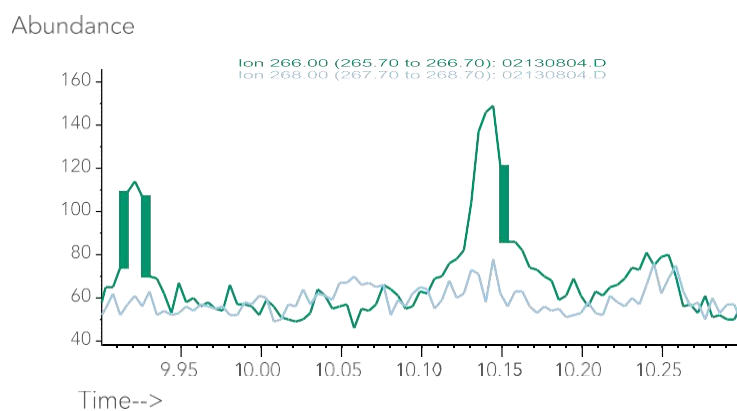
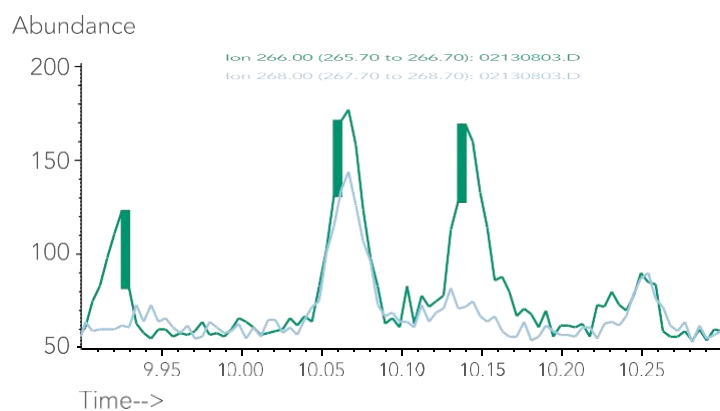


图 5. 添加 10 ppb 百菌清的胡萝卜和空白胡萝卜基质的提取离子色谱图（离子 $m/z = 266$ 和 268）。10.06 分钟百菌清峰值信噪比约为 12。

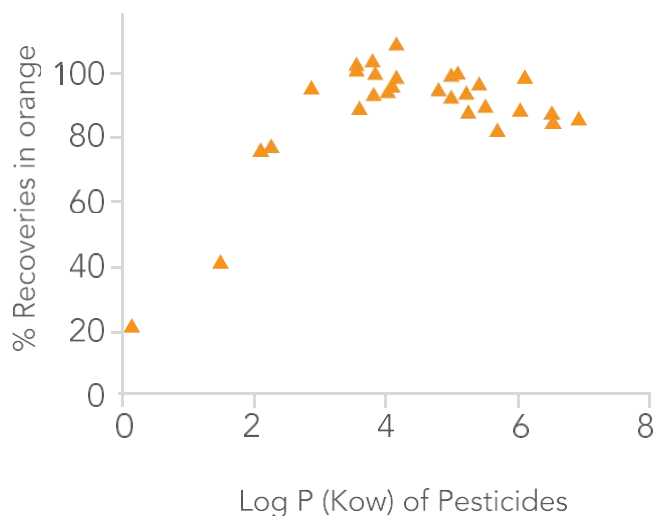
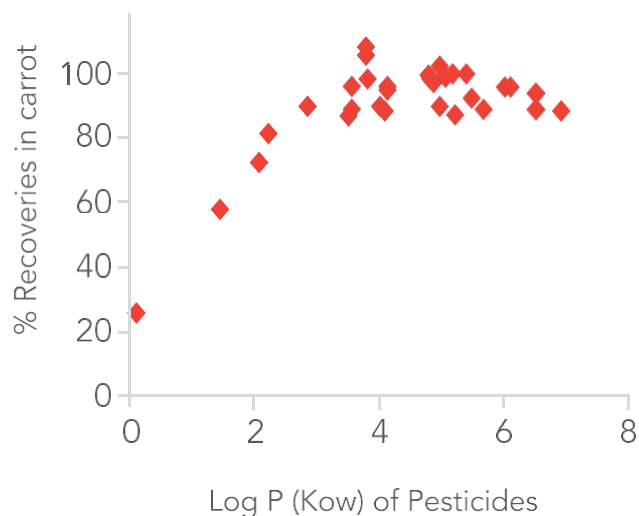


图 6. 有机磷农药的回收率 % 与农药的 $\log P$ 值（指极性程度）的关系图。极性是基于水和 1-辛醇的平衡分配常数。只有极性很强（ $\log P$ 值小于约 1.8）的农药回收率较低。

致谢

我们非常感谢以下组织的支持：

- Dept. of Chemistry and Biochemistry, University of South Carolina, Columbia, SC.
- SC Department of Agriculture, Columbia, SC.

 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

