

曹 军, 黄月芳, 沈山江. 鳕鱼中菊酯类农药检测方法的改进[J]. 江苏农业科学, 2013, 41(10): 251–253.

鳕鱼中菊酯类农药检测方法的改进

曹 军¹, 黄月芳², 沈山江¹

(1. 江苏省盐城出入境检验检疫局, 江苏盐城 224002; 2. 江苏省盐城市盐都区农业委员会, 江苏盐城 224002)

摘要:建立了鳕鱼中菊酯类农药多残留的简单、快速检测方法。采用乙腈缓冲溶液进行提取, 改进的 QuEChERS 法进行分散固相萃取净化, 结合气相色谱法对鳕鱼中 6 种菊酯类农药同时检测, 取得了满意结果。添加样品的回收率为 82.9% ~ 105.8%, 相对标准偏差在 2.8% ~ 7.1%, 方法最低检出限分别是氯氰菊酯为 0.02 mg/kg, 甲氰菊酯、联苯菊酯、高效氯氟氰菊酯、溴氰菊酯、氰戊菊酯均为 0.01 mg/kg。

关键词:分散固相萃取; QuEChERS; 鳕鱼; 菊酯类农药

中图分类号: S481+.8 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2013)10-0251-02

菊酯类农药 (Pyrethroid pesticides) 是一类人工合成的广谱性杀虫剂, 具有速效、低毒、低残留和触杀作用强等特点^[1-2]。除对 140 多种害虫防治有特效外, 有些菊酯类农药还对地下害虫和螨类害虫有较好的防治效果。一般认为, 菊酯类农药是通过干扰神经传导而使害虫丧失意识致死, 但是这类农药也被怀疑具有内分泌干扰效应^[3], 即通过食物链进入机体, 对哺乳动物的生殖、免疫和心血管等多个系统造成明显的毒副作用^[4]。菊酯类农药用于靶生物以防虫除害时, 对非靶生物如蜜蜂、家蚕、天敌昆虫、鱼、虾、蟹、贝等水生生物也产生毒害作用。同时农药的大量使用, 也将使多种害虫产生抗药性, 进而导致生态系统结构改变和功能破坏^[5]。目前, 菊酯类农药残留的分析检测主要使用色谱法, 如液相色谱法、气相色谱法和液质联用法^[6]。色谱法具有较高的回收率、较好的重现性和较低的检出限。常用的样品前处理方法有溶剂萃取技术、超临界萃取技术、微波萃取技术和膜分离技术等^[7-10]。这些方法虽然各有独特优点, 但也各有其局限性。如溶剂萃取技术大量使用有机溶剂, 易产生二次污染; 超临界萃取技术容易实现溶剂与目标物分离, 且无污染, 但是操作复杂、成本高; 膜分离技术存在膜的堵塞问题。因此, 针对食品和环境成分复杂、性质相似、含量偏低的菊酯类农药残留, 建立和完善快速、灵敏和选择性好的分离/富集检测方法非常重要。

QuEChERS (Quick、Easy、Cheap、Effective、Rugged and Safe) 方法是 2003 年由美国农业部的 Anastassiades 教授等提出的用于农产品检测的快速、简单、低成本的样品前处理技术, 该方法的关键是采用分散固相萃取净化法, 即在提取液中直接加入 PSA 吸附剂粉末进行净化, 经离心后上清液上机检测^[11]。相关报道指出, 已有 200 余种农药残留可用该方法进行分析, 其中包括含脂肪的介质体系^[12-13], 但将该方法应用于水产品中菊酯类农药多残留的分析尚未见报道。本研究以鳕鱼为检测对象, 对 QuEChERS 方法进行了改进, 旨在建立一套前处理简便、快捷, 既能有效消除水产品中脂肪的干扰, 又具有较好灵敏度、准确度和精密度的检测方法, 为科学控制

该类农药使用及日常例行水产品残留监控提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

Agilent7890A 气相色谱仪 (美国 Agilent 公司生产); 电子捕获检测器 (ECD); T25 型高速分散机 (德国 IKA); RV-10 型旋转浓缩仪 (德国 IKA); TTL-DC II 氮吹仪 (北京同泰联科技发展有限公司生产); 微型涡旋混匀仪 (德国 IKA)。农药标样: 甲氰菊酯、联苯菊酯、高效氯氟氰菊酯、氯氰菊酯、溴氰菊酯、氰戊菊酯均为 100 $\mu\text{g/mL}$, 由农业部环境保护科研监测所提供。乙腈、正己烷为色谱纯; PSA 吸附剂、 C_{18} 吸附剂、石墨化碳吸附剂、冰乙酸、无水醋酸钠、无水硫酸镁均为分析纯; 水为超纯水。

1.2 色谱条件

色谱柱: DB-1701 石英毛细管柱 (30 m \times 0.32 mm, 0.25 μm); 载气: 氮气 (N_2 , 99.999%); 柱流速: 2.0 mL/min; 进样口温度: 250 $^{\circ}\text{C}$; 进样方式: 不分流进样; 恒流模式; 柱温程序: 初始温度 200 $^{\circ}\text{C}$ (保持 0.5 min), 以 4 $^{\circ}\text{C/min}$ 升至 260 $^{\circ}\text{C}$ (保持 14.5 min); 进样量: 1.0 μL ; 检测器温度: 300 $^{\circ}\text{C}$ 。

1.3 样品分析

称取 10.0 g (精确至 0.1 g) 粉碎鳕鱼肌肉组织样于 250 mL 具塞锥形瓶中, 加入 50.0 mL 含 1% 冰乙酸的用正己烷饱和的乙腈溶液, 再加入 1.0 g 无水 NaAc, 2.0 g 无水 MgSO_4 , 涡旋振荡 1 min, 然后高速匀浆提取 2 min。提取液过滤于平底烧瓶中, 残渣分别用 10 mL 乙腈溶液洗涤 2 次, 合并提取液, 40 $^{\circ}\text{C}$ 真空旋转浓缩近干。用 10 mL 乙腈多次洗涤烧瓶, 洗涤液收集于 10 mL 刻度试管中, 50 $^{\circ}\text{C}$ 水浴氮吹到 2 mL 以下, 用乙腈定容到 2 mL, 然后分别加入 100 mg PSA 吸附剂、100 mg C_{18} 吸附剂、50 mg 石墨化碳吸附剂, 涡旋振荡 1 min, 上清液过 0.22 μm 有机系滤膜于自动进样瓶中, 待测。色谱见图 1。

2 结果与分析

2.1 样品的提取和净化

参照 QuEChERS 方法^[7], 并加以改进。含 1% 冰乙酸的

收稿日期: 2013-03-18

作者简介: 曹 军 (1982—), 男, 安徽怀宁人, 硕士, 工程师, 主要从事农产品及环境分析。E-mail: cj925928@126.com。

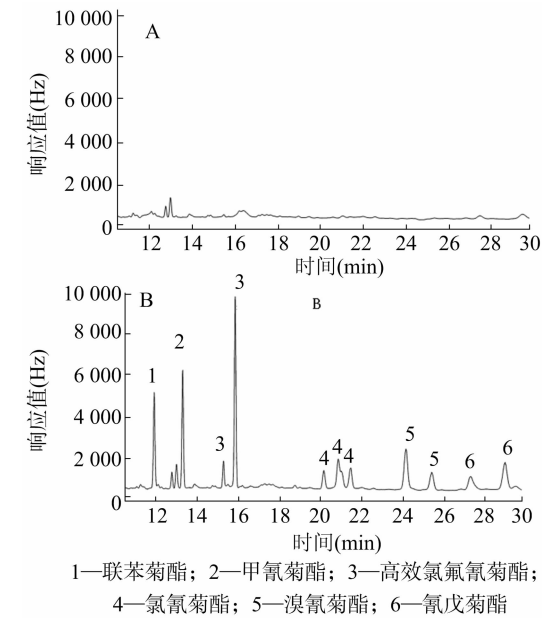


图1 空白鳊鱼(A)、添加 0.05 mg/kg 混标鳊鱼(B)的色谱

用正己烷饱和的乙腈溶液在提取过程中能更好起到浸润的作用,提取效果也会更好,而且减少了极性,避免带入水分。采用 PSA 分散性固相萃取净化,可有效去除乙腈提取液中脂肪

酸、糖类、酚类以及极性色素等成分,这些成分往往会在进样口和柱头积聚,引起基体效应,使农药组分的色谱行为变差,但 PSA 不能去除提取液中的弱极性色素,加入石墨化碳吸附剂能够有效去除弱极性色素,另外 C₁₈ 吸附剂去油效果较好。分散剂的量对农药回收率影响较大,试验过程中分别用不同比例的 PSA、C₁₈ 和石墨化碳吸附剂做条件净化试验,结果发现用 100 mg PSA 吸附剂、100 mg C₁₈ 吸附剂、50 mg 石墨化碳吸附剂能够最大化地净化样品,并且不影响回收率。改进后的方法能够快速、简便实现水产品中菊酯类农药多残留前处理分析。

2.2 线性范围与方法检出限

准确配制 0.05 ~ 1 μg/mL 不同浓度的各种菊酯类农药标准品工作溶液,按照上述色谱条件测定,以峰面积对浓度制作标准曲线;通过试验及计算得出方法实际最低检出限,结果见表 1。结果表明,6 种农药在 0.05 ~ 1 μg/mL 内线性关系良好,氯氰菊酯的方法检出限为 0.02 mg/kg,甲氰菊酯、联苯菊酯、高效氯氟氰菊酯、溴氰菊酯、氰戊菊酯的方法检出限均为 0.01 mg/kg,满足日常水产品农药残留检测要求。

2.3 回收率和精密度试验

采用空白加标的方式,在鳊鱼中对菊酯类农药均按照 0.05、0.1、0.2 mg/kg 3 个水平进行加标回收试验,按“1.3”节的操作步骤进行试验,测定结果见表 2。

表 1 6 种菊酯类农药线性范围和方法检出限

农药名称	线性方程	相关系数 (r ²)	线性范围 (μg/mL)	方法检出限 (mg/kg)
甲氰菊酯	y = 178 429x - 0.8	0.999 7	0.05 ~ 1	0.01
联苯菊酯	y = 179 032x - 73.2	0.999 1	0.05 ~ 1	0.01
高效氯氟氰菊酯	y = 290 721.2x - 38.5	0.999 5	0.05 ~ 1	0.01
氯氰菊酯	y = 204 136.7x - 10.3	0.998 8	0.05 ~ 1	0.02
溴氰菊酯	y = 159 720.3x - 29.7	0.999 1	0.05 ~ 1	0.01
氰戊菊酯	y = 126 249.5x - 18.5	0.998 9	0.05 ~ 1	0.01

表 2 鳊鱼中添加农药混标的回收率及相对标准偏差 (RSD)

农药名称	添加浓度 (mg/kg)					
	0.05		0.1		0.2	
	回收率 (%)	RSD (%)	回收率 (%)	RSD (%)	回收率 (%)	RSD (%)
甲氰菊酯	87.1 ~ 103.5	5.8	90.2 ~ 105.1	4.8	87.0 ~ 98.2	4.5
联苯菊酯	89.2 ~ 95.3	2.8	89.5 ~ 98.5	3.1	88.2 ~ 96.8	3.4
高效氯氟氰菊酯	82.9 ~ 91.3	3.5	84.1 ~ 95.2	4.5	83.6 ~ 92.1	3.4
氯氰菊酯	85.8 ~ 95.7	4.2	87.3 ~ 97.6	5.2	86.9 ~ 98.1	4.1
溴氰菊酯	88.5 ~ 105.8	7.1	84.1 ~ 103.5	7.1	87.5 ~ 99.2	5.3
氰戊菊酯	83.5 ~ 92.6	4.3	84.3 ~ 98.9	6.1	85.2 ~ 102.5	6.9

注:n = 6。

从表 2 可以看出,在上述 3 个添加浓度中,样品中菊酯类农药的平均加标回收率为 82.9% ~ 105.8%,相对标准偏差在 2.8% ~ 7.1% 之间。结果表明,该残留检测方法可靠,重现性好,精密度和准确度均能达到农药残留分析的要求。

3 结论

本研究建立了气相色谱法测定鳊鱼中菊酯类农药残留分析方法。采用改进的 QuEChERS 法进行前处理,快速、简便、准确、价格低廉且避免大量有机溶剂的使用,测定结果令人满

意。研究结果为水产品中菊酯类农药残留量测定提供了有效前处理方法和检测手段。

参考文献:

[1] Feo M L, Ginebreda A, Eljarrat E, et al. Presence of pyrethroid pesticides in water and sediments of Ebro River Delta[J]. Journal of Hydrology, 2010, 393 (3): 156 - 162.
[2] 石 年, 李 涛, 刘毓谷. 我国对拟除虫菊酯类农药神经毒理学研究概况[J]. 卫生毒理学杂志, 1999, 13 (4): 278 - 281.

马 芸,赵 营,姜 瑞,等. 乳制品中黄曲霉毒素 M1 含量的酶联免疫法评价[J]. 江苏农业科学,2013,41(10):253-254.

乳制品中黄曲霉毒素 M1 含量的酶联免疫法评价

马 芸,赵 营,姜 瑞,吴 燕,张峰峰

(农业部枸杞产品质量监督检验测试中心/宁夏农林科学院农业资源与环境研究所,宁夏银川 750002)

摘要:采用酶联免疫法测定生鲜牛乳和巴氏杀菌乳中黄曲霉毒素 M1 的含量,用加标回收率及精密度试验评价了结果的准确性及可靠性。结果表明,生鲜牛乳和巴氏杀菌乳的加标回收率平均值分别为 97.4%、94.1%,回收率相对标准偏差(RSD)分别为 1.7%、1.2%。生鲜牛乳和巴氏杀菌乳中黄曲霉毒素 M1 浓度分别为 4.33、4.39 ng/L,RSD 分别为 0.58%、0.33%。采用酶标仪测定乳制品中黄曲霉毒素 M1 含量具有很好的准确性和精密度。

关键词:乳制品;酶联免疫法;黄曲霉毒素 M1

中图分类号: TS252.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2013)10-0253-02

黄曲霉毒素(aflatoxin,AF)是由多种霉菌如黄曲霉和寄生霉菌产生的有毒代谢物^[1-2]。黄曲霉毒素衍生物包括 B1、B2、G1、G2、M1、M2 等^[3],其中 B1 毒性最强,M1、G1 次之,B2、G2、M2 较弱^[4]。当饲料含水量超过 15% 时,黄曲霉毒素大量繁殖。奶牛进食含有黄曲霉毒素的饲料后,黄曲霉毒素 B1 通过羟基化被转化成黄曲霉毒素 M1,黄曲霉毒素 M1 相对稳定,牛奶常规处理方法如巴氏灭菌法对其没有影响,因此如果原奶中存在黄曲霉毒素 M1,其终端产品中也存在^[5]。GB 9676—1988《牛乳及其制品中黄曲霉毒素 M1 限量卫生标准》规定,黄曲霉毒素 M1 限量值分别为:酸牛奶 $\leq 0.2 \mu\text{g}/\text{kg}$ 、生鲜牛乳 $\leq 0.5 \mu\text{g}/\text{kg}$ 、液态乳 $\leq 0.2 \mu\text{g}/\text{kg}$ 。目前,黄曲霉毒素的检测方法主要包括层析法、色谱法、免疫法

等^[3,5-8]。本研究以生鲜牛乳和巴氏杀菌乳为材料,通过酶联免疫法测定生鲜牛乳和巴氏杀菌乳中黄曲霉毒素 M1 含量,旨在为测定乳制品中黄曲霉毒素 M1 含量提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

生鲜牛乳,采自宁夏银川某奶牛场;巴氏杀菌乳,市售。

1.2 仪器及试剂

ELx808IU 酶标仪、感量 0.000 1 g 分析天平,100 μL 和 200 μL 多通道移液器,氮吹仪,离心机,黄曲霉毒素 M1 检测试剂盒。甲醇;清洗液(PBS-T):0.62 g $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ + 5.73 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ + 9 g NaCl ,定容至 1 000 mL,再加 0.5 mL 吐温 20。

1.3 样品制备

将未处理的生鲜牛乳冷藏过夜,形成脂肪球。若样品为室温保存或样品在运输中已混合,将单位体积样品冷藏 1 ~

收稿日期:2013-07-04

作者简介:马 芸(1967—),女,山东枣庄人,实验师,从事质量标准研究与农产品质量风险评估研究。E-mail:345797930@qq.com。

[3] Li H B, Li Y L, Cheng J. Molecularly imprinted silica nanospheres embedded CdSe quantum dots for highly selective and sensitive optosensing of pyrethroids [J]. Chemistry of Materials, 2010, 22: 2451-2457.

[4] 黄建勋,梁丽燕,陈润涛,等. 溴氰菊酯致突变性试验研究和评价[J]. 卫生毒理学杂志,2001,15(4):234-236.

[5] Spinosa H S, Silva Y A, Nicolau A A, et al. Possible axiogenic effects of fenvalerate, a type II pyrethroid pesticide, in rats [J]. Physiology, Behavior, 1999, 67: 611-615.

[6] Shi X, Liu J, Sun A, et al. Group-selective enrichment and determination of pyrethroid insecticides in aquaculture seawater via molecularly imprinted solid phase extraction coupled with gas chromatography-electron capture detection [J]. Journal of Chromatography A, 2012, 1227: 60-66.

[7] Sharif Z, Man Y C, Hamid N A, et al. Determination of organochlorine and pyrethroid pesticides in fruit and vegetables using solid phase extraction clean-up cartridges [J]. Journal of Chromatography A, 2006, 1127: 254-261.

[8] García-Rodríguez D, Carro-Díaz A M, Lorenzo-Ferreira R A, et al. Determination of pesticides in seaweeds by pressurized liquid

extraction and programmed temperature vaporization-based large volume injection-gas chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Journal of Chromatography A, 2010, 1217: 2940-2949.

[9] Sanusi A, Guillet V, Montury M. Advanced method using microwaves and solid-phase microextraction coupled with gas chromatography-mass spectrometry for the determination of pyrethroid residues in strawberries [J]. Journal of Chromatography A, 2004, 1046 (1/2): 35-40.

[10] Rissato S R, Galhiane M S, Knoll F R, et al. Supercritical fluid extraction for pesticide multiresidue analysis in honey; determination by gas chromatography with electron-capture and mass spectrometry detection [J]. Journal of Chromatography A, 2004, 1048 (2): 153-159.

[11] Lehotay S J. Quick, easy, cheap, effective, rugged and safe approach for determining pesticide residues [J]. Pesticide Protocols, 2006, 19: 239-261.

[12] Lehotay S J, Mastovský K, Yun S J. Evaluation of two fast and easy methods for pesticide residue analysis in fatty food matrixes [J]. Journal of AOAC International, 2005, 88 (2): 630-638.

[13] 胡西洲,程运斌,胡定金. QuEChERS 法测定蔬菜中有机磷类农药多残留分析 [J]. 中国测试技术, 2006, 32 (3): 132-133.