

吕爱娟,沈小明,蔡小虎,等. 优化 QuEChERS - 气相色谱法测定谷物中有机氯和多氯联苯残留[J]. 江苏农业科学,2017,45(21):219-222.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2017.21.062

优化 QuEChERS - 气相色谱法测定谷物中有机氯和多氯联苯残留

吕爱娟, 沈小明, 蔡小虎, 沈加林

(中国地质调查局南京地质调查中心, 江苏南京 210016)

摘要:建立一种快速检测谷物中 16 种有机氯和多氯联苯的 QuEChERS - GC 分析方法。通过系统考察提取溶剂和净化条件,确立 QuEChERS 方案:样品以正己烷 - 乙酸乙酯(体积比 = 4 : 1)为提取溶剂,进行超声 + 漩涡提取,以 *N* - 丙基乙二胺(primary secondary amine,简称 PSA)、C18E 作为吸附剂进行净化,采用气相色谱 - 电子捕获检测器(gas chromatography - electron capture detector,简称 GC - ECD)进行检测。结果表明,16 种有机氯和多氯联苯在一定范围内呈线性关系,定量限(limit of quantity,简称 LOQ)在 0.3 ~ 4.2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 之间。样品加标回收率为 87.5% ~ 106.2%,相对标准偏差为 1.63% ~ 4.82%。

关键词:谷物;有机氯农药;多氯联苯;QuEChERS;气相色谱法

中图分类号: S482.3⁺2;TX207.5⁺3 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2017)21-0219-04

粮食与食品安全关乎民生问题,水稻、小麦、玉米等谷物作为三大主粮,其安全问题更是受到高度关注。农作物易受土壤、灌溉用水的影响,有机氯(organochlorine pesticides,简称 OCPs)和多氯联苯(polychlorinated biphenyls,简称 PCBs)作为环境中典型的持久性有机污染物(persistent organic pollutants,简称 POPs)^[1]具有高度的疏水性,易通过食物链蓄积在脂肪中。根据 GB/T 19649—2006《粮谷中 475 种农药

及相关化学品残留量的测定 - 气相色谱/质谱法》^[2],并结合已有文献报道^[3-6],目前谷物中 OCPs 和 PCBs 残留主要采用快速溶剂萃取(accelerated solvent extraction,简称 ASE)、索氏和超声等方法结合凝胶渗透色谱和固相萃取柱净化进行测定。这些前处理方法都较为成熟,但存在一些不足:耗时、劳动密集、须要使用大量有毒有机溶剂(索氏萃取和超声萃取)、高成本投资和维持快速溶剂萃取仪。净化过程一般采用固相萃取柱层析,该方法包括老化、淋洗、洗脱等环节,容易引起重复性差的问题。QuEChERS(quick, easy, cheap, effective, rugged and safe,简称 QuEChERS)方法作为一种相对环境友好、高效的前处理技术,目前已广泛应用于蔬菜、水果的农药残留检测中^[7]。QuEChERS 方法用于谷物中农药残留

收稿日期:2016-06-08

作者简介:吕爱娟(1981—),女,江苏常州人,硕士,工程师,主要从事环境污染检测与控制研究。Tel:(025)84897953;E-mail:lajsunny@163.com。

3 结论

本研究以杜仲籽为原材料,以杜仲籽油的提取率为指标,在单因素试验的基础上,采用 Box - Behnken 中心组合设计原理设计 4 因素 3 水平试验优化杜仲籽油的提取条件,结果表明,采用有机溶剂浸提 - 水蒸气组合法提取杜仲籽油的最佳条件为:样品粒度 > 80 ~ 100 目,超声处理时间 15 min,料液比 1 g : 7 mL,蒸馏时间 4 h,在此条件下杜仲籽油的提取率为 20.26%。

参考文献:

- [1] 沈保安. 中国常用中草药[M]. 合肥:安徽科学技术出版社,2005:133-135.
- [2] 赵德义,徐爱遐,张博勇,等. 杜仲籽油与紫苏籽油脂肪酸组成的比较研究[J]. 西北植物学报,2005,25(1):191-193.
- [3] 李丽萍,韩涛. 富含 α - 亚麻酸植物资源的开发与利用[J]. 食品科学,2007,28(11):614-618.
- [4] Box G E P, Behnken D W. Some new three level design for the study

- of quantitative variables[J]. Technometrics,1960,2(4):455-475.
- [5] 陶国琴,李晨. α - 亚麻酸的保健功效及应用[J]. 食品科学,2000,21(12):141-143.
- [6] Christon R, Haloui R B, Durand G. Dietary polyunsaturated fatty acids and aging modulate glutathione - related antioxidants in rat liver[J]. The Journal of Nutrition,1995,125(12):3062-3070.
- [7] Bjerve K S, Fischer S, Alme K. Alpha - linolenic acid deficiency in man:effect of ethyl linolenate on plasma and erythrocyte fatty acid composition and biosynthesis of prostanoids[J]. American Journal of Clinical Nutrition,1987,46(4):570-576.
- [8] 赵文红,范青生,肖小年,等. 杜仲籽油研究开发现状与利用展望[J]. 中国油脂,2006,31(3):66-68.
- [9] 辛欣,范青生,罗眼科,等. 杜仲籽油可食用性研究[J]. 中国油脂,2007,32(4):15-19.
- [10] 张兆旺. 中药药剂学[M]. 北京:中国中医药出版社,2003.
- [11] 孙兰萍,马龙,管清美,等. 超声波辅助提取杜仲籽油的工艺优化[J]. 资源开发与市场,2009,25(2):97-99.
- [12] 韩建军,宁娜,郁建生,等. 响应面优化微波协同酶法提取川芎阿魏酸的工艺[J]. 江苏农业科学,2016,44(3):284-288.

的检测亦有报道^[8-14],但采用该方法同时测定 OCPs 和 PCBs 的报道较少。

本试验将 QuEChERS 方法应用于大米、小麦、玉米等谷物中常见的 9 种 OCPs 和 7 种指示性 PCBs 的检测,系统考察 QuEChERS 方法前处理条件,主要通过优选提取溶剂,比较 *N*-丙基乙二胺(primary secondary amine,简称 PSA)、末端封端 C18 填料(C18E)、石墨化碳黑(graphitized carbon black,简称 GCB)等 3 种分散吸附剂对样品提取液的吸附效果,建立 QuEChERS 结合气相色谱-电子捕获检测器(gas chromatography-electron capture detector,简称 GC-ECD)法测定谷物中 16 种有机氯和多氯联苯的残留情况。

1 材料与方法

1.1 仪器与主要试剂

主要仪器有 GC-2014 气相色谱仪(日本岛津公司),配电子捕获检测器(electron capture detector,简称 ECD,日本岛津公司),WH-3 漩涡振荡仪(上海沪西分析仪器厂有限公司),10、100 μ L 及 1、5 mL 气密型注射器,Milli-Q 纯水系统,KQ-500DE 数控超声波清洗器(昆山超声仪器有限公司),高速离心机(上海安亭科学仪器厂)。

主要试剂有 9 种 OCPs 混合标准溶液(德国 Dr. Ehrenstorfer): α -六氯环己烷(α -hexachlorocyclohexane,简称 α -BHC)、六氯苯(hexachlorobenzene,简称 HCB)、 β -BHC、 γ -BHC、 δ -BHC、*o,p'*-双对氯苯基三氯乙烷(*o,p'*-dichlorodiphenyltrichloroethane,简称 *o,p'*-DDT)、*p,p'*-DDT、*p,p'*-双(6-羟基-2-萘)二硫[*p,p'*-bis(6-hydroxy-2-naphthyl) disulfide,简称 *p,p'*-DDD]、*p,p'*-1,1-双(对氯苯基)-2,2-二氯乙烯[*p,p'*-1,1-bis(chlorophenyl)-2,2-dichloroethylene,简称 *p,p'*-DDE],7 种 PCBs 混合标准溶液(德国 Dr. Ehrenstorfer):PCB28、PCB52、PCB101、PCB118、PCB138、PCB153、PCB180;六氯苯标准溶液购自中国计量科学研究院国家标准物质研究中心;正己烷、丙酮、乙酸乙酯均为农残级;水为 Milli-Q 超纯水;*N*-丙基乙二胺填料、C18E(美国 Welchrom 公司)、GCB(美国 Supelco 公司)。

1.2 样品制备

大米、小麦、玉米样品均购自超市。样品粉碎后过 60 目筛,低温保存待测。所有样品均取适量干燥至恒质量,测定含水率,试验结果均以样品干质量计。

1.3 样品提取与净化

提取:精密称取 2 g 样品于 50 mL 具塞玻璃试管中,加入 5 mL 正己烷-乙酸乙酯(体积比为 4:1),摇匀,超声 15 min,中间摇匀 2 次,取出高速涡旋 2 min,加入 0.5 g 无水 $MgSO_4$,再涡旋 1 min,溶液过 0.45 μ m 滤膜。净化:取 2 mL 滤液,加入 100 mg PSA、50 mg C18E、25 mg GCB,涡旋 30 s,过 0.45 μ m 滤膜,滤液待测。

1.4 色谱条件

色谱柱为 TR-5,60 m \times 0.25 mm \times 0.25 μ m;载气为氮气;流速为 1.1 mL/min;进样口温度为 250 $^{\circ}C$;程序初始温度为 150 $^{\circ}C$,以 3 $^{\circ}C$ /min 升至 240 $^{\circ}C$,再以 5 $^{\circ}C$ /min 升至 310 $^{\circ}C$;检测器温度为 320 $^{\circ}C$;进样量 1 μ L,不分流。

2 结果与分析

2.1 QuEChERS 提取溶剂的考察

结合文献[4,15],主要考察混合溶剂正己烷-丙酮(体积比为 1:1)、正己烷-乙酸乙酯(体积比为 4:1)的提取效率。初步试验结果表明,大米、小麦和玉米这 3 种谷物样品中,大米和小麦的样品提取液(未净化)色谱图基质干扰较小、基线平稳,玉米样品(未净化)基质干扰较大,因大米提取液无色,小麦提取液微黄,所以本试验首先选取大米为试验对象,比较 2 种溶剂对大米中 16 种 OCPs 和 PCBs 的提取效率。由于谷物均为干性介质,目标化合物与样品结合较为紧密,涡旋在萃取方式上相对柔和,样品与溶剂接触时间较短使目标化合物不能有效溶出,因此,本试验在单独涡旋振荡的基础上增加超声,谷物水分含量较少,在其中加入 0.5 g 无水 $MgSO_4$ 用于脱水。样品提取同“1.3”节中的步骤。

由图 1 可知,正己烷-乙酸乙酯(体积比为 4:1)的回收率高于正己烷-丙酮(体积比为 1:1)的回收率,正己烷-丙酮(体积比为 1:1)回收率的结果误差相对较大,图谱也显示杂质峰较多,可能是因为该混合溶剂极性较大,可以提取出更多淀粉、色素等对结果造成一定的干扰。

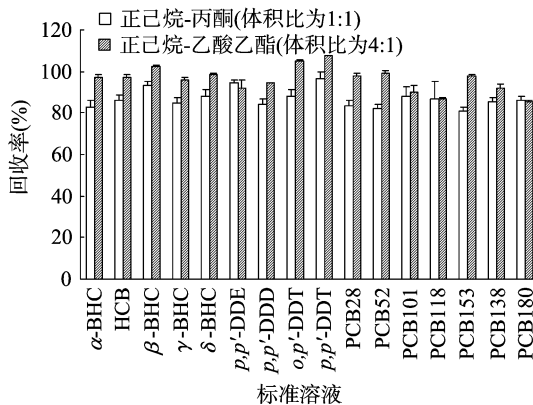


图1 不同提取溶剂提取16种有机氯和多氯联苯的回收率(n=3)

2.2 QuEChERS 净化条件的优化

2.2.1 吸附剂对不同溶剂加标回收率的影响 考虑到谷物中含淀粉、脂肪酸及少量色素等特点,考察 PSA、C18E、GCB 等 3 种吸附剂的吸附效果。试验首先考察单种吸附剂在纯溶剂介质中对 OCPs、PCBs 的吸附效果,然后考察在正己烷-乙酸乙酯(体积比为 4:1)、正己烷溶剂中 3 种吸附剂对 9 种 OCPs 添加浓度为 10 μ g/L、7 种 PCBs 添加浓度为 100 μ g/L 的回收率的影响。参考美国分析化学家协会标准(association of official analytical chemists,简称 AOAC) 2007.01、欧洲标准(european norm,简称 EN)15662^[7],分别取 100 mg PSA、50 mg C18E、25 mg GCB 加入加标溶剂中。由图 2 可知,在正己烷介质中,PSA 对 β -BHC 和 δ -BHC 产生较强吸附作用,回收率分别为 28.9%、11.7%,对其他化合物基本无影响;GCB 对 HCB、 δ -BHC、PCB28 及 PCB118 存在一定的吸附作用;C18E 对所有化合物均无影响。

由图 3 可知,在正己烷-乙酸乙酯(体积比为 4:1)介质中,PSA 与 C18E 对所有化合物均无吸附作用;GCB 主要对 HCB 产生强烈的吸附作用,这与 HCB 的平面结构有关。2 种

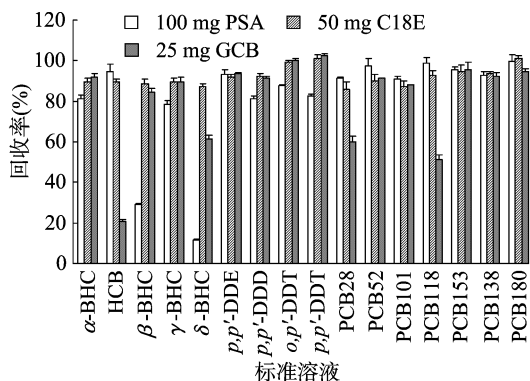


图2 3种吸附剂在正己烷介质中对16种有机氯和多氯联苯的回收率($n=3$)

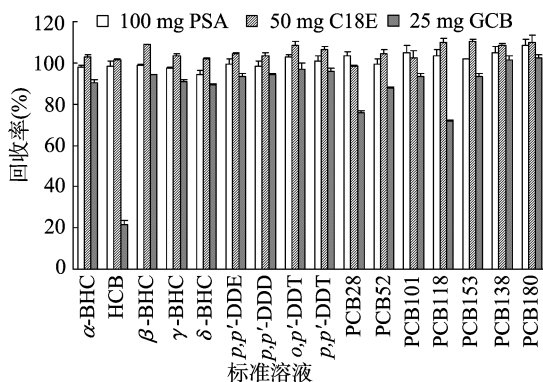


图3 3种吸附剂在正己烷-乙酸乙酯(体积比为4:1)介质中对16种有机氯和多氯联苯的回收率($n=3$)

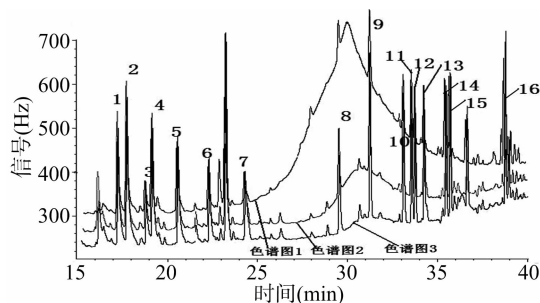
溶剂中吸附剂表现的不同吸附能力说明,吸附剂对目标化合物的吸附能力与溶剂的极性有关。考虑到溶剂与实际样品提取液存在差别,本试验初步确定样品经正己烷-乙酸乙酯(体积比为4:1)提取后,提取液直接采用 PSA、C18E 净化, GCB 有待进一步考察。

2.2.2 吸附剂对样品基质加标回收率的影响 本试验对大米正己烷-乙酸乙酯(体积比为4:1)提取液的加标情况进行考察。试验取大米正己烷-乙酸乙酯(体积比为4:1)提取液基质,加入适量标准溶液,再分别加入 PSA、C18E、GCB。结果表明,PSA、C18E 对目标化合物无影响,16 种 OCPs 和 PCBs 的回收率均在 95%~110% 之间,与溶剂加标结果基本一致;加入吸附剂 GCB 后,HCB 的回收率为 80.2%,其他 15 种化合物的回收率在 90%~108% 之间,回收率明显高于溶剂加标,这说明样品中杂质与目标化合物对 GCB 产生竞争吸附作用。针对不同的样品基质,在净化样品的同时,要保证目标化合物的回收率,精确考察 GCB 的用量。

2.2.3 吸附剂对不同实际样品的净化效果比较 取大米、小麦和玉米样品的正己烷-乙酸乙酯(体积比为4:1)提取液,加入标准溶液后比较净化前后的效果,试验首先考察 PSA、C18E。净化前大米基本无色,小麦微黄,玉米颜色较深,经 PSA、C18E 净化后,小麦与玉米的颜色变浅。从色谱图上看,大米和小麦净化前基线基本平稳,杂质峰较多但对 16 种目标化合物的干扰较小,净化后杂质峰减少。玉米净化前基质干扰严重、基线不平稳(图 4),基质主要对 PCB101 和 DDE 的色谱峰有影响。加入 PSA 后,基线略有改善,加入 PSA 与 C18E

后,基线平稳。从回收率结果来看,净化前 PCB101 和 DDE 的回收率分别为 64.6%、88.9%,加入 PSA 净化后两者的回收率分别为 90.7%、92.9%,加入 PSA 与 C18E 后两者的回收率分别为 105.2%、103.2%。加入 PSA 与 C18E 可以在较大程度上降低玉米基质的干扰。

由于玉米经 PSA 与 C18E 净化后呈浅黄色,在加入 PSA 与 C18E 的基础上,再加入 GCB。结果表明,GCB 的加入没有使样品明显脱色,考虑到 GCB 的加入对部分目标化合物回收率的影响较大,PSA 与 C18E 联合净化已能满足净化要求。因此,本试验采用 PSA 与 C18E 作为净化剂。



色谱图1—未净化;色谱图2—PSA净化;
色谱图3—PSA+C18E净化

1— α -BHC; 2—HCB; 3— β -BHC; 4— γ -BHC;
5— δ -BHC; 6—PCB28; 7—PCB52; 8—PCB101;
9—DDE; 10—PCB118; 11—DDD; 12— o,p' -DDT;
13—PCB153; 14— p,p' -DDT; 15—PCB138;
16—PCB180

图4 玉米样品基质加标情况

2.3 校准曲线、定量限、回收率及精密度

将 16 种 OCPs 与 PCBs 配制成系列混和标准曲线,按色谱条件进行分析。由表 1 可知,16 种 OCPs 和 PCBs 在一定浓度范围内峰面积(y)与浓度(x)呈线性关系,相关系数均大于 0.997。以信噪比(signal-to-noise ratio,简称 S/N)=10 为最低定量限(LOQ),选用不含目标化合物的大米作为空白基质样品,对该方法的精密度和准确性进行验证。平行称取 5 份空白样品,加入浓度为 20 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 的混合标准溶液,按照“1.3”“1.4”节的方法进行处理,16 种 OCPs 和 PCBs 回收率在 87.5%~106.2% 之间,相对标准偏差在 1.63%~4.82% 之间,回收率的结果表明该方法具有良好的准确度和精密度。

2.4 谷物样品部分检测结果

按照“1.3”“1.4”节中的步骤对市售部分谷物样品进行检测。OCPs 参照 GB 2763—2012《食品中农药最大残留限量》^[16] 中谷物中成品粮农药再残留限量,DDT 总量 < 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$;谷物中 PCBs 残留限量暂无相应标准,参照 GB 2762—2012《食品中污染物限量》^[17] 中水产动物及其制品限量,PCBs 总量 < 500 $\mu\text{g}/\text{kg}$,由表 2 可知,本试验样品的检测结果低于相关标准限量。考虑到粮食安全必须得到绝对保障,有必要建立快速的检测方法。

3 结论

本研究开发的 QuEChERS 方案:样品以正己烷-乙酸乙酯(体积比为4:1)为提取溶剂,进行超声+涡旋提取,采用 PSA、C18E 作为吸附剂进行净化,采用 GC-ECD 进行检测。该方法操作简单、溶剂用量少,样品前处理时间短(<30 min),

表 1 16 种 OCPs 和 PCBs 的回归方程、定量限、回收率及精密度

组分	回归方程及曲线范围 ($\mu\text{g/L}$)	相关系数	定量限 ($\mu\text{g/kg}$)	回收率 (%) ($n=5$)
α -BHC	$y=2\ 641.90x+276.230(0.2\sim200)$	0.999 3	0.5	95.5 ± 3.86
HCB	$y=5\ 111.50x+1\ 034.100(0.2\sim200)$	0.999 7	0.3	97.2 ± 3.23
β -BHC	$y=1\ 400.30x+591.560(0.2\sim200)$	0.998 4	0.7	93.5 ± 3.54
γ -BHC	$y=2\ 508.70x+321.450(0.2\sim200)$	0.998 8	0.5	94.1 ± 3.84
δ -BHC	$y=2\ 297.30x+641.870(0.2\sim200)$	0.999 1	0.5	89.2 ± 3.69
p,p' -DDE	$y=2\ 659.10x+408.310(0.2\sim200)$	0.999 6	0.5	88.7 ± 4.82
p,p' -DDD	$y=1\ 798.40x+346.260(0.2\sim200)$	0.998 6	0.6	88.8 ± 3.04
o,p' -DDT	$y=1\ 667.90x+563.240(0.2\sim200)$	0.998 2	0.6	89.8 ± 3.07
p,p' -DDT	$y=1\ 781.80x+432.560(0.2\sim200)$	0.999 3	0.6	89.6 ± 3.26
PCB28	$y=231.89x+36.129(1.0\sim500)$	0.998 8	3.6	94.6 ± 4.10
PCB52	$y=192.84x+45.262(1.0\sim500)$	0.998 9	4.2	106.2 ± 3.09
PCB101	$y=267.66x+62.314(1.0\sim500)$	0.998 7	3.0	93.3 ± 3.15
PCB118	$y=254.87x+83.646(1.0\sim500)$	0.997 7	3.0	90.2 ± 3.26
PCB153	$y=276.79x+77.621(1.0\sim500)$	0.998 6	3.0	91.5 ± 4.39
PCB138	$y=318.36x+234.560(1.0\sim500)$	0.996 8	2.8	91.3 ± 2.93
PCB180	$y=378.89x+276.290(1.0\sim500)$	0.997 5	2.5	87.5 ± 1.63

表 2 几种谷物样品的部分检测结果

化合物	残留限量 ($\mu\text{g/kg}$)					
	1# (大米)	2# (大米)	3# (小麦)	4# (小麦)	5# (玉米)	6# (玉米)
P,P' -DDT	—	4.1 ± 0.2	—	2.4 ± 0.1	—	—
PCB153	—	12.3 ± 0.3	—	—	—	—
PCB180	—	9.5 ± 0.2	—	—	—	—

注：“—”表示在样品中未检出有残留。

与传统方法^[4]相比具有更好的准确度和精密度,可用于快速检测谷物中 16 种 OCPs 和 PCBs,在相关污染监控检测方面具有较好地应用前景。

参考文献:

[1] 谢武明,胡勇有,刘焕彬,等. 持久性有机污染物(POPs)的环境问题与研究进展[J]. 中国环境监测,2004,20(2):58-61.

[2] 国家质量监督检验检疫总局. 粮谷中 475 种农药及相关化学品残留量的测定:气相色谱-质谱法:GB/T 19649—2006[S]. 北京:中国标准出版社,2007.

[3] 蒋 卉,晋玉霞,刘文杰. 溶剂萃取-气相色谱法测定粮食中硫丹类农药残留量[J]. 理化检验(化学分册),2010,46(3):251-253.

[4] 杨佳佳,佟 玲,吴淑琪,等. 加速溶剂萃取-气相色谱法测定谷物中有机氯农药和多氯联苯[J]. 岩矿测试,2013,32(3):487-494.

[5] 毕新慧,储少岗,徐晓白. 多氯联苯在水稻田中的迁移行为[J]. 环境科学学报,2001,21(4):454-458.

[6] 李 樱,储晓刚,仲维科,等. 凝胶渗透色谱和固相萃取净化-气相色谱分离组合法测定糙米中的残留农药[J]. 分析化学,2004,32(10):1325-1328.

[7] Anastassiades M, Lehotay S J, Štajnbaher D, et al. Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and “dispersive solid-phase extraction” for the determination of pesticide

residues in produce[J]. Journal of AOAC International, 2003, 86(2):412-431.

[8] Hou X, Han M, Dai X, et al. A multi-residue method for the determination of 124 pesticides in rice by modified QuEChERS extraction and gas chromatography-tandem mass spectrometry[J]. Food Chemistry, 2013, 138(2/3):1198-1205.

[9] 庞民好,康占海,陶 晔,等. 基质固相分散-高效液相色谱法测定小麦籽粒中吡虫啉和啉虫脒残留[J]. 农药学报 2008, 10(4):491-494.

[10] He Z Y, Wang L, Peng Y, et al. Multiresidue analysis of over 200 pesticides in cereals using a QuEChERS and gas chromatography-tandem mass spectrometry-based method[J]. Food Chemistry, 2015, 169:372-380.

[11] 张 潜,赖发伟. 气相色谱法同时测定大米中 37 种农药残留[J]. 理化检验(化学分册),2010,46(11):1289-1292.

[12] 聂 鲲. 大米中 28 种有机氯及拟除虫菊酯农药残留 GC-ECD 测定[J]. 食品工业科技,2012,33(7):347-349.

[13] 李春风,沈伟健,蒋 原,等. 分散固相萃取气相色谱-负化学离子源质谱法测定大豆和玉米中 20 种农药的残留量[J]. 色谱,2009,27(2):176-180.

[14] Kolberg D I, Prestes O D, Adaime M B, et al. Development of a fast multiresidue method for the determination of pesticides in dry samples (wheat grains, flour and bran) using QuEChERS based method and GC-MS[J]. Food Chemistry, 2011, 125(4):1436-1442.

[15] Miao Q, Kong W, Yang S, et al. Rapid analysis of multi-pesticide residues in lotus seeds by a modified QuEChERS-based extraction and GC-ECD[J]. Chemosphere, 2013, 91(7):955-962.

[16] 中华人民共和国农业部, 中华人民共和国卫生部. 食品中农药最大残留限量:GB 2763—2012[S]. 北京:中国农业出版社,2013.

[17] 中华人民共和国卫生部. 食品中污染物限量:GB 2762—2012[S]. 北京:中国标准出版社,2013.