

气相色谱法测定大米中稻瘟灵残留量

尤青山

(黑龙江省农业科学院, 黑龙江哈尔滨 150086)

摘要: 建立了一种测定大米中稻瘟灵残留量的气相色谱法。样品经乙腈提取, 提取液浓缩后经中性氧化铝固相萃取柱与羧罗里硅土固相萃取柱净化, 用配有电子捕获检测器的气相色谱仪测定, 外标法定量。稻瘟灵线性范围为 0.0025~0.250 0 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, 其相关系数和回归方程分别为 $R^2=0.9996$, $y=57194.44x-71.82$ 。样品平均加标回收率为 87.8%~106.7%, 相对标准偏差为 4.35%~5.91%。方法的最低检出限 0.005 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。

关键词: 稻瘟灵; 气相色谱; 大米

中图分类号: TS212.7 文献标识码: A 文章编号: 1002-2767(2009)05-0105-03

Determination of Isoprothiolane Residues in Aquatic Products by Gas Chromatography

YOU Qing-shan

(Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin, Heilongjiang 150086)

Abstract: The gas chromatographic method was used to determine isoprothiolane residues in rice. The isoprothiolane residue in the test sample was extracted with acetonitrile. After the extracts was evaporated, the residues were cleaned up by solid phase extraction(SPE) with a neutral aluminum oxide cartridge and a florisil cartridge. The residue was determined by GC with ECD detector, using external standard method. The liner range was 0.0025~0.250 0 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ for isoprothiolane. The correlation coefficients were 0.9996 for isoprothiolane. The regression equation was $y=57194.44x-71.82$. The average recoveries of isoprothiolane in spiked samples ranged from 87.8%~106.7%, and the relative standard deviations were between 4.35%~5.91%. The limit of detection was 0.005 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ in method.

Key words: isoprothiolane; GC; rice

稻瘟灵, 化学名称: 1,3-二硫戊环-2-叉丙二酸二异丙酯, 别名: 富士一号、异丙硫环。分子式: $\text{C}_{12}\text{H}_{18}\text{O}_4\text{S}_2$, 英文名为 isoprothiolane, CAS 号: 50512-35-1。稻瘟灵属于杂环类有机杀菌剂, 应用十分广泛。主要用于防治水稻稻瘟病, 对水稻颈瘟有特效, 对稻苗瘟和小球菌核病均有效, 大面积使用还可兼治稻飞虱、叶蝉, 并对植物生长有调节作用。正常使用剂量下对作物无害, 安全间隔期 14 d。据中国农药毒性分级标准, 稻瘟灵属于低毒杀菌剂, 急性经口毒性 $\text{LD}_{50}(\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1})$: 雄大白鼠 1190, 雌大白鼠 1340, 雄小白鼠 1350, 雌大白鼠 1520, 雄土拨鼠 1020, 雄兔 2320, 鲤鱼、鲫鱼 $\text{TLm}(48\text{h})$ 为 6.7 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 虹鳟鱼 6.8 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 泥鳅为 9.3 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 稻米的允许残留量为 2.0 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。在正常用量下, 对鸟类、家禽无危害, 用 0.5% 的 40% 乳油喷施时, 24 h 内对蜜蜂无影响。

由于稻瘟灵大量使用, 而又不遵守停药时间, 以至于药物残留于食品中可能性非常大, 将有可能对人类健康产生极大危害。因此, 为了保护人类健康, 各国政府对食品中稻瘟灵残留量的检测都很重视, 均制定了严格的限量要求。尤其日本政府于 2006 年 5 月 29 日实施了“肯定列表制度”, 所要求的农、兽残限量更为严格, 对我国出口食品将产生极大影响。稻瘟灵是日本政府实施明令检查的项目, 规定大米中最高残留限量为 2.0 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 韩国最高残留限量为 0.5 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 我国最高残留限量为 1 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。目前, 国内外^[1-3]有关大米中稻瘟灵残留量测定方法报道很少, 大多采用气相色谱附火焰光度检测器或气相色谱附电子捕获检测器进行检测及气相色谱-质谱确证, 但其方法的最低检测限达不到 0.01 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。因此, 研究和建立一种适用于大米中稻瘟灵残留量测定的气相色谱法, 满足实际检测工作是非常必要的。

收稿日期: 2009-06-30

作者简介: 尤青山(1955-), 男, 黑龙江省宾县人, 高级农艺师, 从事管理工作。E-mail: 641038444@qq.com。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

1.1.1 仪器 Agilent 5890 气相色谱仪(电子捕获检测器); Supelco 固相萃取装置; DS-1 组织捣碎机; TDZ5-WS 离心机; SI-T246 旋涡混合器; RE-52 旋转蒸发器; MTN-2800D 氮吹仪; IKA-25basic 均质器。

1.1.2 试剂和材料 正己烷、丙酮、乙腈(色谱纯, 科密欧公司); 无水硫酸钠(分析纯, 经 650 °C 灼烧 4 h, 置于干燥器内备用); 正己烷-丙酮溶液(8+2, v/v)。

稻瘟灵标准品(isoprothiolane, 纯度 ≥ 99%, 购于 Dr. Ehrenstorfer GmbH), 用丙酮配成浓度为 100 μg · mL⁻¹ 的标准储备液。

氟罗里硅土固相萃取柱: (1 000 mg, 6 mL) 预先依次用 3 mL 丙酮、5 mL 正己烷活化, 备用。

中性氧化铝固相萃取柱: (1 000 mg, 6 mL) 预先依次用 3 mL 丙酮、5 mL 正己烷活化, 备用。

1.2 样品处理

1.2.1 提取 称取试样约 5 g (精确到 0.01 g) 于 50 mL 离心管中, 加入 5 g 无水硫酸钠和 20 mL 乙腈, 用均质器以 12 000 r · min⁻¹ 均质 2 min, 在 4 000 r · min⁻¹ 下离心 5 min。将上清液通过无水硫酸钠柱脱水于 100 mL 浓缩瓶中。再用 20 mL 乙腈重复提取一次, 合并提取液于同一 100 mL 浓缩瓶中, 在 45 °C 水浴中用旋转蒸发器浓缩至近干, 再用氮气流吹干。加入 5 mL 正己烷溶解残渣待净化。

1.2.2 净化 将上述样液全部转移到中性氧化铝固相萃取柱中, 控制流速在 1~2 mL · min⁻¹, 弃去流出液。再自上而下将中性氧化铝固相萃取柱与氟罗里硅土固相萃取柱串接, 于固相萃取柱中加入 10 mL 正己烷-丙酮(8+2, v/v) 溶液洗脱, 控制流速在 1~2 mL · min⁻¹, 收集洗脱液。洗脱液经 60 °C 氮吹仪吹干后, 用 5 mL 正己烷溶解, 供气相色谱仪测定。

1.2.3 气相色谱条件 (1) 色谱柱: Rt x-1701 石英毛细管柱, 30 m × 0.25 mm (i.d.) × 0.25 μm 或相当者; (2) 色谱柱温度: 初始温度 150 °C 保持 4 min, 以 30 °C · min⁻¹ 升至 260 °C · min⁻¹, 保持 5 min, 再以 20 °C · min⁻¹ 升至 270 °C · min⁻¹, 保持 3 min; (3) 进样口温度: 260 °C; (4) 检测器 (ECD) 温度: 350 °C; (5) 载气: 氮气, 纯度大于 99.999%, 恒流模式, 1.0 mL · min⁻¹; (6) 进样量: 1 μL; (7) 进样方式: 无分流进样, 0.75 min 后开阀。

2 结果与讨论

2.1 气相色谱检测器的选择

稻瘟灵的化学名称为 1,3-二硫戊环-2-叉丙二酸二异丙酯, 分子式为 C₁₂H₁₈O₄S₂。从其化学名称、分子式中可以看出, 应优先选择气相色谱仪附火焰光度检测器(FPD)测定其残留量。GB/T 5009.155-2003 就采用

火焰光度检测器(FPD)测定大米中稻瘟灵残留量, 其检出浓度为 0.013 mg · kg⁻¹。我们也曾进行过实验, 测定下限很难达到 0.01 mg · kg⁻¹, 无法满足日本肯定列表“一律标准 0.01 mg · kg⁻¹”要求。为此, 我们查阅了大量文献资料, Cho S K 等人^[3] 在农药多残留分析中, 采用气相色谱仪附电子捕获检测器(ECD)和气质联用仪检测、确证大米中二嗪磷、苯硫磷和稻瘟灵残留量。因此, 我们利用气相色谱仪附电子捕获检测器(ECD)进行了实验研究, 结果发现稻瘟灵在电子捕获检测器(ECD)的灵敏度要远远大于附火焰光度检测器(FPD)。分析电子捕获检测器(ECD)有高灵敏度的原因, 可能是杂环上的两个硫原子和碳原子上含有两个羰基具有比较强的电负性所致。所以本方法检测器的选择为电子捕获检测器(ECD)。

2.2 提取剂的选择

根据稻瘟灵易溶于苯、醇和丙酮等有机溶剂的性质, 选择了乙腈和正己烷-丙酮混合溶液作为提取剂进行实验, 结果发现乙腈和正己烷-丙酮(2+1)提取的回收率大于 70%, 但在净化效果上乙腈要优于正己烷-丙酮(2+1), 而且乙腈提取的基体中干扰峰明显少了很多, 可满足样品回收率的检测要求。因此, 本方法选择乙腈作为提取剂, 共提取两次, 每次 20 mL 就能满足回收率检测的需要。

2.3 净化方法的选择

根据大米样品低脂肪、蛋白含量适中等特点, 我们选择中性氧化铝固相柱串接于氟罗里硅土固相萃取柱上方, 两者既可以有效地去除样品中的脂肪, 又能去除其他杂质。本实验室采用了正己烷-丙酮(9+1, v/v)和正己烷-丙酮(8+2, v/v)作为洗脱剂, 进行了实验, 结果发现 10 mL 正己烷-丙酮(9+1, v/v)不能完全将稻瘟灵从中性氧化铝固相柱上洗脱下来, 而选择正己烷-丙酮(8+2, v/v)作为洗脱剂, 10 mL 之内就完全将稻瘟灵从串接柱上洗脱下来, 而且其目标峰和杂质峰能完全分离, 其洗脱曲线见图 1。

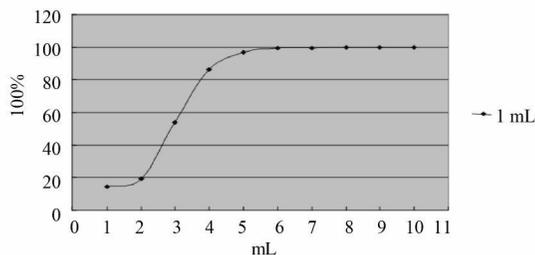


图 1 串接柱洗脱曲线

2.4 线性范围与检测限

根据稻瘟灵的灵敏度, 配制一系列不同浓度的稻瘟灵标准溶液, 在所确定的分析条件下进行 GC 测定, 建立标准曲线。以待测物质峰面积(y)对稻瘟灵的浓度(x)进行线性回归, 稻瘟灵的直线回归方程为 y =

57194.44x-71.82, 其相关系数和为 $R^2, R^2 = 0.999 6$ 。浓度范围为 $0.002 5 \sim 0.250 0 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, 检出限为 $0.002 5 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, 方法的最低检出浓度为 $0.005 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ (见图 2~图 4), 可满足国内外限量要求。

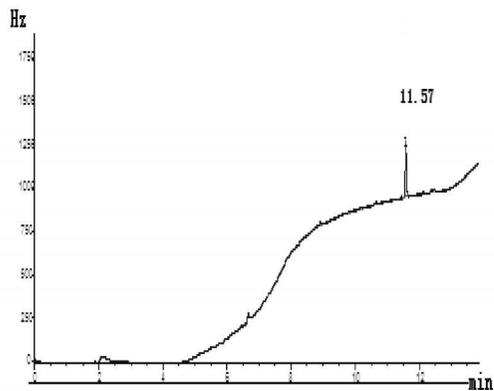


图 2 相当于 $0.005 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 标准品色谱图

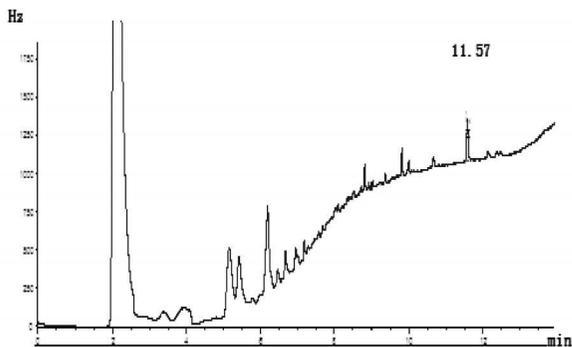


图 3 大米样品添加 $0.005 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 色谱图

2.5 方法的回收率和精密度

本方法以大米为研究对象, 采用添加法进行了三个水平的回收率试验 (见表 1)。由表 1 可见: 大米中稻瘟灵在添加水平 $0.005 \sim 0.050 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时, 样品平均加标回收率在 $87.8\% \sim 106.7\%$, 相对标准偏差为 $4.35\% \sim 5.91\%$ 。方法的准确度和精密度均符合残留分析的要求。

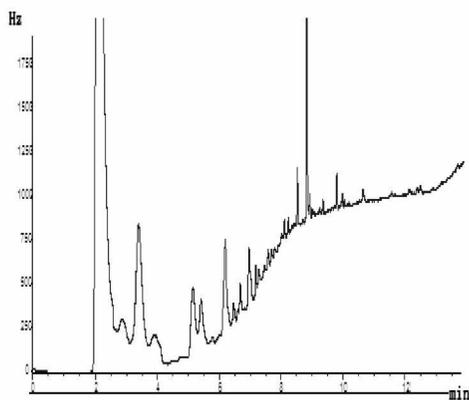


图 4 大米样品空白色谱图

表 1 室内回收率和精密度实验结果 ($n=10$)

样品名	添加量 $/\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	回收率 $/\%$	相对标准 偏差 $/\%$
大米	0.050	87.8~99.8	5.87
	0.010	91.7~106.7	5.91
	0.005	88.6~104.9	4.35

3 结论

本实验对气相色谱法测定大米中稻瘟灵残留量的方法进行了研究, 采用乙腈高速均浆提取和固相萃取小柱净化技术, 建立了合适的样品提取、净化的前处理方法; 并对气相色谱条件进行了优化, 建立了最佳色谱条件。该方法具有简便、快捷、灵敏、重现性好等特点, 可满足大米中稻瘟灵残留量检测方法的需要。

参考文献:

- [1] GB/T 5009.155-2003 大米中稻瘟灵残留量测定[S]. 食品卫生国家标准汇编, 2003.
- [2] Ishizaka. Isoprothiolane residue in unpolished rice grain imported from South Korea. Eisei Shikenjo Hokoku, 1986, (104): 151-154.
- [3] Cho S K. A multiresidue method for the analysis of pesticide residues in polished rice (*Oryza sativa* L.) using accelerated solvent extraction and gas chromatography and confirmation by mass spectrometry[J]. Biomedical Chromatography, 2007, 21(6): 602-609.

果农的挚友 致富的向导

欢迎订阅《果树实用技术与信息》

《果树实用技术与信息》是由中华人民共和国农业部主管, 中国农业科学院主办的果树类期刊。本刊为月刊, 16 开本。集科学性、实用性、时效性于一体。为满足广大读者的要求, 适应我国果树生产和发展的需要, 2010 年将丰富原有栏目内容, 同时增加新的栏目。全方位报道我国果树生产和发展的最新动态、新技术、新成果、新品种、新农药等。内容将更加丰富、实用、及时; 同时提高装帧印刷质量, 内文采用双胶纸印刷, 提质不提价。欢迎踊跃订阅, 欢迎惠登广告, 欢迎投稿。

主要栏目: 专家论坛、果业动态、果树栽培技术、果树医院、果农顾问、果品贮藏与加工、优新品种、新农药、产销动态、市场行情、果园综合开发、果树珍稀资源、知识角、市场营销等。

及时 实用 专业 权威

国内发行, 邮发代号: 8-220, 每册定价 3.8 元, 全年 45.6 元。读者可到当地邮局(所)订阅, 也可向本刊编辑部订阅。

地址: 辽宁省兴城市中国农业科学院果树研究所《果树实用技术与信息》编辑部

邮编: 125100 电话: 0429-3598130 邮箱: gssyjs2007@sohu.com