

乐果液相色谱与气相色谱检测方法的比较

林抗美¹, 马丽娜¹, 朱育菁¹, 官雪芳², 史怀¹, 王宗华³, 鲁国东³, 刘波¹

¹福建省农科院农业生物资源研究所, 福州 350003; ²福建省农科院农业工程技术研究所, 福州 350003;

³福建农林大学生命科学学院, 福州 350002)

摘要:【研究目的】通过应用液相色谱法(HPLC)和气相色谱法(GC)对乐果测定的参数进行比较, 为乐果检测方法的选择提供参考。【方法】分别应用气相色谱和高效液相色谱法对乐果检测条件进行优化, 对这两种测定方法的灵敏度、线性相关性、稳定性及添加回收率的等参数测定结果进行比较。【结果】用液相色谱法测定乐果最低检测限为 0.01mg/L, 比用气相色谱法(最低检测到 0.1mg/L)测定时有更高的灵敏度; HPLC 检测($r=0.9990$)较 GC($r=0.9937$)有更好的线形相关性; 在乐果浓度低于 0.1mg/L 时, 用液相色谱法对乐果进行测定有很好的稳定性, 在浓度高于 0.1mg/L, 两种测定方法的稳定性相当。【结论】用液相色谱法测定乐果完全可以达到农药登记残留试验准则的要求, 它比气相色谱法更适合乐果的微量及常量的检测。

关键词: 乐果; 气相色谱; 液相色谱

中图分类号: S482.3 文献标识码: A

Comparison between the Detection Methods of Dimethoate by HPLC and GC

Lin Kangmei¹, Ma Lina¹, Zhu Yujing¹, Guan Xuefang², Shi Huai¹,

Wang Zonghua³, Lu Guodong³, Liu Bo¹

¹Agricultural Bioresource Research Institute, Fujian Academy of Agricultural Sciences, Fuzhou 350003;

²Institute of Agricultural Engineering Technology, Fujian Academy of Agricultural Sciences, Fuzhou 350003;

³Life Science College, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002)

Abstract: 【OBJECTIVE】Comparison between parameters in Dimethoates detection tests by using HPLC and GC was conducted, in order to supply reference for selection of Dimethoates detection method. 【METHOD】The detection conditions of Dimethoates by using HPLC and GC were optimized respectively, and then the sensitivity, linear relevancy, stability and adding recovery rate of these two method were compared. 【RESULTS】Comparing with the lowest detection limit of 0.1mg/L for Dimethoates by GC, higher sensitivity of HPLC with 0.01mg/L was recorded. Also, HPLC had better linear relevancy than GC. When the concentration of Dimethoates lower than 1.0mg/L, better stability was found by HPLC than GC; but the similar stabilities were observed while the concentration higher than 0.1mg/L. 【CONCLUSION】HPLC was better than GC as the macro- and micro-detections for Dimethoates, which could achieve the requirement of Pesticide Register Residue Test Rule in China.

Key words: Dimethoates, GC, HPLC

基金项目: 福建省科技厅项目“有机磷农药降解剂‘降磷灵’的研制”(2005Y008)。

第一作者简介: 林抗美, 女, 1950 年出生, 福建福州人, 研究员, 学士, 长期从事害虫综合治理、生物农药、生物防治、无公害农业生产技术的示范与推广研究, 通信地址: 350003 福州市五四路 247 号, 福建省农科院农业生物资源研究所, Tel: 0591-87848933, E-mail: laeptb@163.com。

通讯作者: 刘波, 男, 1957 年出生, 福建惠安人, 研究员, 博士, 主要从事生物技术和生物防治研究。通信地址: 350003 福州市五四路 247 号, 福建省农业科学院, Tel: 0591-87848933, E-mail: laeptb@163.com。

收稿日期: 2008-05-21, 修回日期: 2008-07-22。

乐果(Dimethoate)是内吸性有机磷杀虫、杀螨剂,杀虫范围广,对害虫和螨类有强烈的触杀和一定的胃毒作用,在昆虫体内能氧化成活性更高的氧乐果,其作用机制是抑制昆虫体内的乙酰胆碱脂酶,阻碍神经传导而导致死亡。乐果属剧毒类农药,微溶于水,可溶于大多数有机溶剂,由于其治虫效果显著,深受农民的。但是由于乐果半衰期长,内吸性也较强,它的过量使用,已严重影响农产品品质,因农药残留引起的食物中毒事件时有发生,同时也对中国的农产品出口产生严重的影响。因此乐果成为了常规农药残留检测项目之一^[1-4]。

作为农药残留检测家族的成员,乐果的检测方法自然也显得重要,建立好的方法将对乐果的残留检测提供很大的帮助。已采用的乐果检测方法有GC法、HPLC法和磷钼蓝分光光度法等^[5-7],主要集中在气相色谱法:在用于水质中的乐果检测的国家标准GB 13192-91和用于食品中乐果检测的国家标准GB/T 5009.20-1996中,均是采用气相色谱法^[8]。但是周亚拉(1991)^[9]和姜敏怡等(2001)^[10]都指出用气相色谱法检测乐果的热稳定性及重现性较差,该研究在实验过程中也发现同类问题。因此,为了能找出相对较好的测定乐果方法,此研究拟通过应用气相色谱法及液相色谱法对测定乐果的参数进行比较,为乐果检测方法的选择提供参考。

1 材料与方 法

1.1 试验时间、地点

室内试验于2005年在福建省农科院生物技术研究 所试验室进行。

1.2 试剂和仪器

乐果标样(Sigma-Aldrich公司),丙酮(分析纯),二氯甲烷,氯化钠,乙腈(色谱纯),超纯水(用磷酸调pH值3.0)等。

气相色谱为Agilent GC-6890,FPD检测器及色谱工作站,美国安捷伦公司生产。色谱柱为Agilent毛细管色谱柱HP-5(30mm×0.32mm×0.25μm),载气为高纯氮气(N₂)、氢气(H₂)和空气(均采用高压气瓶)。

高效液相色谱为Agilent HPLC-1100,VWD检测器及色谱工作站,美国安捷伦公司生产。色谱柱为Hypersil ODS-C18反相柱(4.0mm×250mm,填料孔径5μm),柱温为室温。

1.3 乐果的高效液相色谱法(HPLC)检测

1.3.1 乐果标样的制备 乐果标样用乙腈配制成1000mg/L的母液,再依次稀释成20.0、10.0、7.5、5.0、2.0、1.0、0.5、0.1mg/L的系列浓度,备用。

1.3.2 乐果 HPLC 检测条件的优化、灵敏度、相关性和稳定性试验 该实验根据乐果易溶于有机溶剂而并不溶于水的特点,选乙腈与水为流动相,对它们的比例、流速、最佳吸收波段进行筛选,优选出乐果 HPLC 检测分离效果好、出峰时间恰当的条件。由浓至稀依次将不同农药浓度的乐果标样上样检测,记录峰面积,分析峰面积的大小,以产生两倍噪声水平信号为检出限,找出所需引入到色谱柱的最小浓度并计算出最小量,分析乐果 HPLC 检测的灵敏度。将浓度为1.0、2.5、5.0、7.5、10.0mg/L的乐果标准分别进样测定,对测定结果进行相关性分析,分析乐果 HPLC 检测的相关性。根据相关性实验结果,分别取浓度为0.01、0.1、1.0、10.0mg/L的乐果标样,同一样品重复测定6次,记录峰面积及响应时间,计算各自的标准偏差及变异系数,分析乐果 HPLC 检测的稳定性。

1.3.3 乐果在水样中的添加回收实验 设计了1、10、100mg/L 3个浓度的添加回收实验:即将乐果标样用乙腈配置成1000mg/L的标样混合液,然后将标样混合液各加20、200、2000μl到水样中,定容成3个20ml的水样,每个水样充分混匀。取水样5ml,加氯化钠至饱和,再加20ml的二氯甲烷充分混匀,用分液漏斗萃取分离,取二氯甲烷部分,剩余的残液再用10ml的二氯甲烷二次提取,将两次所得二氯甲烷提取液用冷风吹干,再用乙腈定容至5ml,待GC分析。每一重复处理3次。

1.4 乐果的气相色谱法(GC)检测^[9,10]

1.4.1 乐果标样的制备 乐果标样用丙酮配制成1000mg/L的母液,再依次稀释成20.0、10.0、7.5、5.0、2.0、1.0、0.5、0.1mg/L的系列浓度,备用。

1.4.2 乐果 GC 检测条件的优化、灵敏度、相关性和稳定性试验 根据乐果的出峰时间及峰形的分离效果,优选出分离效果好、出峰时间恰当的条件。由浓至稀依次将不同农药浓度的乐果标样上样检测,记录峰面积,分析峰面积的大小,以产生两倍噪声水平信号为检出限,找出所需引入到色谱柱的最小浓度并计算出最小量,分析乐果 GC 检测的灵敏度。将浓度为1.0、2.5、5.0、7.5、10.0mg/L的乐果标准分别进样测定,对测定结果进行相关性分析,分析乐果 GC 检测的相关性。根据相关性实验结果,分别取浓度为0.01、0.1、1.0、10.0mg/L的乐果标样,同一样品重复测定6次,记录峰面积及响应时间,计算各自的标准偏差及变异系数,分析乐果 GC 检测的稳定性。

1.4.3 乐果在水样中的添加回收实验 用丙酮作溶剂,其他同1.3.3,待GC分析。每一重复处理3次。

2 结果与分析

2.1 乐果 HPLC 检测条件的优选结果

乐果的 HPLC 色谱图见图 1, 由图 1 可见乐果的最大吸收波段为 210nm; 经不同配比的乙腈和水的混合流动相分离乐果样品的结果比较得出, 筛选出最适的流动相组成为乙腈:水=30:70, 温度为室温, 流速为 1ml/min, 出峰时间为 7.3min 左右。

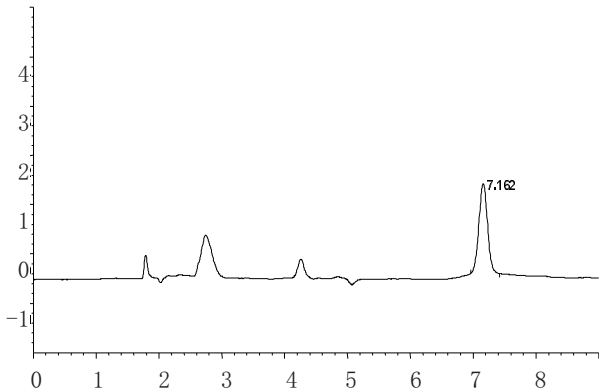


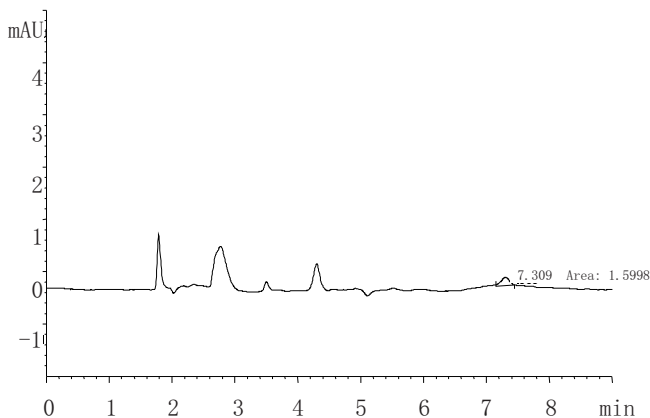
图 1 乐果的 HPLC 色谱图

2.3 乐果的 HPLC 与 GC 检测的灵敏度比较

乐果 HPLC 和 GC 检测灵敏度测定结果见表 1、图 3, 可以看出乐果 HPLC 检测法比 GC 有更高的灵敏度。根据残留限量国家标准 GB/T500920-1996 要求“乐果在食用油中不得有检出, 在稻谷类中要求最大残

表 1 乐果 HPLC 和 GC 检测灵敏度的比较

检测方法	最小进样浓度/(mg·L ⁻¹)	进样量/μl	最低检测量/ng
HPLC	0.01	10	0.1
GC	0.1	3	0.3



2.2 乐果 GC 检测条件的优选结果

乐果的 GC 色谱图见图 2。经出峰时间及峰形的分离效果筛选得出的乐果 GC 检测的优选条件为 N2 57.7ml/min、H₂ 75ml/min、空气 100ml/min, 柱温 100℃ (不停)→20℃/min→210℃ (停 1.5min), 进样口温度为 250℃, 检测器温度为 250℃, 毛细管柱为非极性柱, 出峰时间为 6.09min 左右。

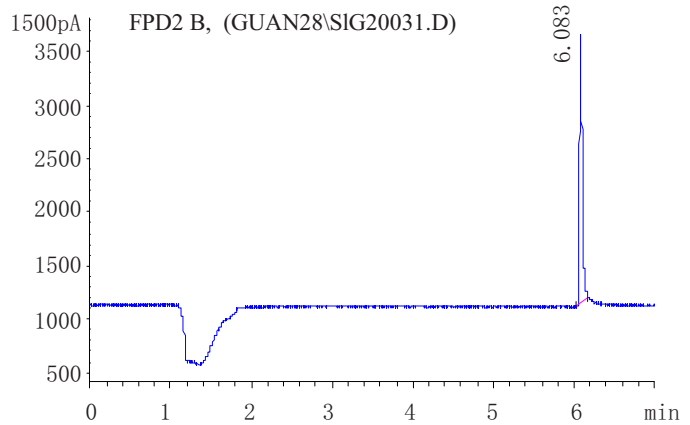


图 2 乐果的 GC 色谱图

留限量≤0.05mg/kg, 在蔬菜、水果中最大残留量≤1.0mg/kg”, 以及农药登记残留试验准则(中国)法的要求“检测极限至少比允许残留量低一个数量级”, 那么用 HPLC 进行检测可以达到乐果的检测要求, 而 GC 只能用于检测蔬菜、水果中乐果的残留分析。

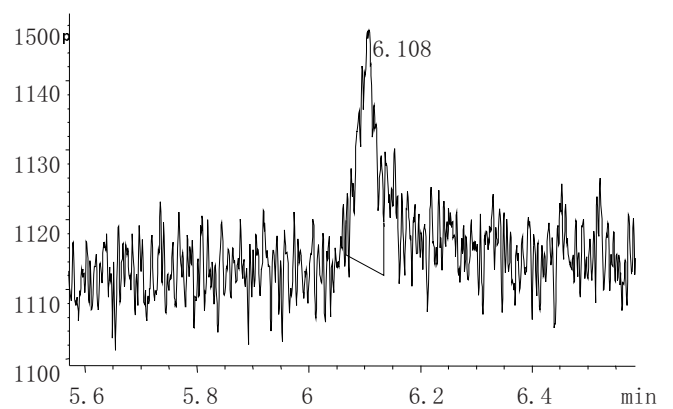


图 3 乐果的液相及气相色谱的灵敏度色谱图

2.4 乐果的 HPLC 与 GC 检测的相关性比较

乐果的 HPLC 和 GC 检测的相关性见图 4, 在浓度范围为 1.0~10.0mg/L 时, HPLC 与 GC 的检测方法与乐果浓度均呈线性正相关。其中用液相色谱法进行

分析, 回归方程为 $Y=14.287x+1.2683$ 其相关系数 $r=0.9990$; 用气相法测得的回归方程为 $Y=545.66x-409.03$, 其相关系数 $r=0.9937$ 。上述结果说明这两种方法均有良好的线性关系, 并且 HPLC 检测较 GC 有更好的线

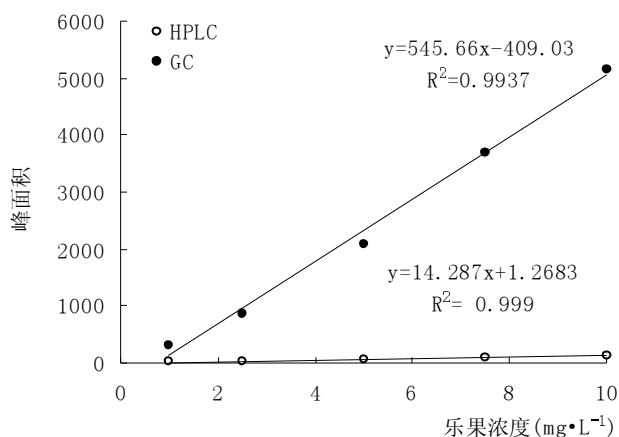


图4 乐果在 HPLC 及 GC 检测中浓度与峰面积的关系

形相关性。

2.5 乐果的 HPLC 与 GC 检测的稳定性比较

乐果在 HPLC 及 GC 检测中的稳定性结果见表 2。根据农药登记残留试验准则(中国)农药残留检测的

表 2 乐果在 HPLC 及 GC 检测中的稳定性比较

浓度 重复	0.01/(mg·L ⁻¹)		0.1/(mg·L ⁻¹)		1.0/(mg·L ⁻¹)		10.0/(mg·L ⁻¹)	
	GC	HPLC	GC	HPLC	GC	HPLC	GC	HPLC
I	-	1.4	58.5	2.7	280.5	16.9	6078.9	129.2
II	-	1.5	57.4	2.5	315.6	18.3	6124.0	131.7
III	-	1.6	37.8	2.9	284.9	19.6	6208.0	131.2
IV	-	1.3	53.1	2.6	291.7	18.8	6218.7	133.7
V	-	1.6	73.4	2.5	301.5	17.8	6162.0	135.4
VI	-	1.4	45	2.5	310.8	19.7	6166.2	130.9
SD	-	0.11	11.19	0.15	12.92	0.99	47.82	2.01
平均值	-	1.47	54.19	2.62	297.49	18.52	6159.33	132.02
CV/%	-	7.48	20.66	5.72	4.34	5.35	0.78	1.51

表 3 乐果在 HPLC 及 GC 检测中的添加回收实验结果比较

浓度 回收率	1.00/(mg·L ⁻¹)		10.00/(mg·L ⁻¹)		100.00/(mg·L ⁻¹)	
	气相	液相	气相	液相	气相	液相
平均回收率/%	90.24	90.37	90.76	89.22	88.28	95.06
变异系数/%	3.54	2.92	4.35	2.17	3.58	1.23

3 讨论

通过对乐果的 GC 和 HPLC 方法的比较分析,发现 HPLC 检测比 GC 检测具有更高的灵敏度,同时 HPLC 的稳定性也优于 GC,建议可用 HPLC 法作为乐果的常规分析及农产品的乐果残留检测分析方法。同时,试验证明将水体用氯化钠处理成过饱和状态后,再用二氯甲烷从中提取乐果可取到较好的效果。

参考文献

[1] 林逢春.农药污染与生态环境[M].北京:中国环境科学出版社,2000.
 [2] 谢永红.农药污染对人体健康的危害[J].四川农业科技,2003:11.
 [3] 赵金辉,赵晓莉.农药污染对人体健康的危害及防治[J].气象教育与

科技,2003,25(2):21-25.
 [4] 高小霞.农药残留分析[M].北京:北京大学出版社,1987:10.
 [5] 周亚拉.HPLC 法在乐果乳油分析中的应用研究 [J]. 云南化工, 1991,3:34-37.
 [6] 姜敏怡,李秀杰,广辉.晶体乐果高效液相色谱分析方法研究[J].农药,2001,40(9):17.
 [7] 杨宏伟.磷钼蓝分光光度法测定乐果含磷量方法的研究[J].内蒙古石油化工,2002,28:32-33.
 [8] 中国标准出版社第一编辑室编.农药残留国家标准汇编[M].北京:中国标准出版社,1999.
 [9] 严衍禄.现代仪器分析[M].北京:农业大学出版社,2002,2:182-185.
 [10] 刘玉焕,李淑彬,刘芳.曲霉 L8 对有机磷农药乐果的降解作用[J].上海环境科学,1998,17(8):20-21.

变异系数要求“1~10ppm ±10%、0.1~1ppm ±20%、0.01~0.1ppm ±50%、0.001~0.01ppm ±100~200%”,此试验中除了在乐果为 0.1mg/L、使用 GC 法检测时, CV=20.66% > 20% 外,其余均在检测标准的范围之内,说明在低浓度时(浓度 < 0.1mg/L)用 HPLC 测定乐果比用 GC 测定有更好的稳定性,而在乐果浓度大于此浓度时,GC 的稳定性与 HPLC 相当,甚至更好。
 2.6 乐果在 HPLC 及 GC 检测中的添加回收实验结果比较
 乐果在 HPLC 及 GC 检测中的添加回收实验结果见表 3。由于采用了相同回收方法,只是最后用了不同的溶剂定容,所以所得的回收率相差不大。根据农药登记残留试验准则(中国)“方法回收率范围应为 70%~110%,一般平均在 80%以上”的要求(变异系数同 2.5),此试验 HPLC 和 GC 的回收率均在 85%以上,变异系数均小于 5%,说明二者都适合用于水体中乐果的回收。