

# 小型凝胶渗透色谱净化系统在农残检测中的应用

## Application of miniaturized gel permeation chromatography (GPC) clean up system in the analysis of pesticide residues

李钧<sup>1,2</sup> 蔡强<sup>2</sup> 黎路<sup>1\*</sup>  
Li Jun<sup>1,2</sup> Cai Qiang<sup>2</sup> Li Lu<sup>1</sup>

(1.上海舜宇恒平科学仪器有限公司 上海 200233; 2.浙江清华长三角研究院 嘉兴 314006)  
(1.Shanghai Sunny Hengping Scientific Instrument Co., Ltd. Shanghai 200233; 2.Yangtze Delta Region Institute of Tsinghua University Zhejiang Jiaxing 314006)

**摘要** 本文对小型凝胶渗透色谱净化(GPC)系统在农残检测中的应用进行研究,优化净化条件,包括净化柱选择和不同流动相比较。样品采用乙腈-乙酸乙酯混合溶剂均质提取,经GPC净化后由气质联用仪(GC-MS)检测。采用规格为2.0mm×150mm的GPC净化柱,流动相为环己烷-乙酸乙酯(1:1),流速0.1mL/min,单个样品净化时间在10min以内,溶剂用量不到常规GPC消耗量的10%,样品处理效率提高2~4倍。本方法平均加标回收率74.67%~109.20%,方法重现性良好,解决常规GPC净化应用中溶剂消耗量大的实际问题,可达到更为环保的效果。

**关键词** 凝胶渗透色谱 净化 溶剂消耗量 农残

**Abstract** The application of gel permeation chromatography (GPC) to the analysis of pesticide residues was studied. The clean up experimental parameters were optimized. Extraction of the pesticides with mixture of acetonitrile and ethyl acetate was carried out. The extracts were cleaned up by GPC and detected by GC-MS. Sample clean up time was less than 10min with a flow rate of 0.1mL/min when using 2.0mm×150mm GPC clean up column and cyclohexane - ethyl acetate (1:1) mobile phase. The sample preparation time was shorted to 2 to 4 times, with less than 10% solvent consumption comparing to normal GPC. The average recovery rate was between 74.67% and 109.20% with high reproducibility. The problem of high solvent consumption in normal GPC clean up was resolved.

**Key words** GPC Clean up Solvent consumption Pesticide residues

中图分类号: TH833 S481.8 文献标识码: B 文章编号: 2095-5200(2013)02-0061-03

### 概述

凝胶渗透色谱(gel permeation chromatography,简称GPC)技术是一种相对分子质量及其分布的快速测定方法,其分离原理基于体积排阻,按照化合物的分子量不同从大到小顺序出峰。GPC应用范围逐步从生物化学、高分子化学、无机化学向其他领域渗透,目前已成为国际公认的农残分析中有效的净化手段,被列入多项标准中,如《AOAC Method No.984.21 动物脂肪中的有机氯农药残留检测》、《EN 12393 食品中农药多残留检测 气相色谱法》、《GB/T 19650-2006 动物肌肉中478种农药及相关化学品残留量的测定 气相色谱-质谱法》等。GPC技术对于含

大分子油脂、色素的样品净化十分有效,并且易于实现自动化操作,可大大缩短样品前处理操作时间和减轻繁杂的手工劳动<sup>[1]</sup>。

目前,GPC净化技术在有机磷、有机氯、拟除虫菊酯以及农药多残留分析中的应用十分广泛<sup>[2-8]</sup>,商品化全自动GPC净化仪器也已经得到发展,但是在实际应用中往往受到限制,除仪器设备成本之外,溶剂用量大是GPC应用的最大问题<sup>[9]</sup>。在常规GPC净化方法中,为获得足够灵敏度,往往采用较大规格净化柱(柱直径一般在2.5cm左右),以承受更大的进样量(一般为5mL)。获得洗脱液之后,再经过浓缩步骤,才得到待测样品溶液。虽然增大进样量有助于提高检测方法灵敏度,但洗脱溶剂量

\* 作者简介:黎路(1981-),硕士,工程师,研究方向:色谱/质谱应用, E-mail: lil@sunnyoptical.com

消耗也大大增加。一般来说单个样品处理时间约为 40min (其中净化收集时间约为 18~20min), 按流速 5mL/min 计算, 需消耗 200mL 洗脱溶剂。本文针对以上实际问题, 采用小型化净化柱, 优化洗脱条件, 建立一套更为经济合理、环保的净化方法。

## 1 实验部分

### 1.1 仪器与试剂

JMS-Q1000GC 气质联用仪, 配有电子轰击源 (EI) (日本电子株式会社); FA2004 电子分析天平 (上海舜宇恒平科学仪器有限公司); T25 分散机 (德国 IKA); TGL-16-A 离心机 (上海安亭科学仪器有限公司); MTN-2800D 氮吹仪 (天津奥特赛恩斯仪器有限公司); GPC 样品前处理设备 (自制)。

乙腈: 色谱纯; 环己烷: 色谱纯; 乙酸乙酯: 色谱纯; 无水硫酸钠: 分析纯; 氯化钠: 分析纯; 农药标准品: 敌敌畏、 $\beta$ -六六六、毒死蜱、丙草胺、溴氰菊酯、环氧七氯 (J&K Scientific Ltd.)。

### 1.2 样品提取

称取 20g 试样 (精确至 0.01g), 放于烧杯中, 加入 40mL 乙腈 - 乙酸乙酯 (1:1) 混合溶液, 用均质器在 15000r/min 均质提取 1min; 加入 5g 氯化钠和 5g 无水硫酸钠, 再均质提取 1min; 将提取液转移至离心管中, 放入离心机, 6000r/min 离心 5min; 取上清液 20mL, 氮吹浓缩至 5mL, 待净化。

### 1.3 GPC 净化条件

净化柱: Shodex CLNpak EV-200 (2.0mm  $\times$  150mm); 检测波长: 254nm; 流动相: 环己烷 - 乙酸乙酯 (1:1); 流速: 0.1mL/min; 进样量: 20  $\mu$ L; 开始收集时间: 2.9min; 结束收集时间: 4.9min。得到样品体积 200  $\mu$ L, 加入 5  $\mu$ L 环氧七氯内标液 (300  $\mu$ g/mL), 作为待测样品溶液。采用 GC-MS 进行后续分析检测。

## 2 结果与讨论

### 2.1 测试样品选择

由于 GPC 净化是基于体积排阻原理, 因此在测试净化效果时, 选取分子量差异较大的农药品种, 包括敌敌畏 (分子量 220.98)、溴氰菊酯 (分子量 505.24)。为验证该方法对不同类型农药残留的净化效果, 选取测试样品: 有机氯类农药 ( $\beta$ -六六六)、有机磷类农药 (敌敌畏、毒死蜱)、拟除虫菊酯类农药 (溴氰菊酯)、除草剂 (丙草胺), 涵盖 GC-MS 能检测的绝大部分农药类型。

### 2.2 提取溶剂优化

在多农残检测中, 最常用的溶剂是乙腈; GPC 净化

所使用的溶剂通常为环己烷 - 丙酮或环己烷 - 乙酸乙酯, 两者极性差异大。为此, 对提取溶剂进行优化。比较乙腈和乙腈 - 乙酸乙酯 (1:1) 提取效果, 对于选取的 5 种农残, 两者没有显著差异 (见表 1), 乙腈 - 乙酸乙酯 (1:1) 提取回收率稍微高于乙腈提取回收率。考虑到后续净化 GPC 所用溶剂的兼容性, 选用乙腈 - 乙酸乙酯 (1:1) 作为样品提取溶剂。

表 1 不同提取溶剂比较

提取溶剂	回收率 (%)				
	敌敌畏	$\beta$ -六六六	毒死蜱	丙草胺	溴氰菊酯
乙腈	108.2	106.4	93.8	91.2	73.2
乙腈 - 乙酸乙酯 (1:1)	111.4	118.4	103.6	100.2	73.0

### 2.3 净化柱选择和条件优化

常规使用净化柱内径为 2.5cm, 流速 5mL/min, 收集时间 22~40min, 每个样品消耗溶剂至少 200mL, 处理 1 个样品的时间在 40min 以上, 不仅耗时, 且溶剂消耗量大, 还需要进行后续浓缩处理。而 GPC 净化柱规格为 2.0mm  $\times$  150mm, 可在流速 0.07~0.1mL/min 下使用, 收集时间为 2~8min, 净化每个样品所需时间在 10min 以内。除提高工作效率、缩短净化时间以外, 还可达到节省溶剂、环保的效果 (见表 2), 检测限也能满足目前国家标准<sup>[10]</sup>, 可用于日常检测。

表 2 与常规 GPC 净化柱对比

	流速 (mL/min)	单个样品处理时间 (min)	溶剂消耗量 (mL)
小型 GPC 系统	0.1	10	1
常规 GPC 净化系统	1~5	20~40	20~200

GPC 净化常用流动相为环己烷 - 乙酸乙酯和环己烷 - 丙酮, 对这 2 种混合溶剂的净化效果进样考察, 均获得较好效果。考虑到与提取溶剂的兼容性, 选择环己烷 - 乙酸乙酯作为净化流动相。流动相比比例对杂质和目标物的分离有一定影响, 提高乙酸乙酯比例可缩短目标物出峰时间, 减小收集馏分体积, 有利于达到较低的检出限。所以选择环己烷 - 乙酸乙酯 (1:1) 作为流动相, 得到的样品溶液经 GC-MS 分析。净化前后的效果 (见图 1)。

### 2.4 方法重现性及加标回收率

在已知含量的样品中添加一定量标准品, 按上述前处理方法制备, 平行制备 3 份, GC-MS 分析, 计算加标回收率和相对标准偏差 (见表 3)。

### 2.5 检测限

按 2 倍信噪比计算最低检测限, 以苹果样品为例, 检测限分别为:  $\beta$ -六六六 0.0105mg/kg, 敌敌畏 0.0042mg/kg, 毒死蜱 0.0062mg/kg, 溴氰菊酯 0.0367mg/kg, 丙草胺 0.0113mg/kg。

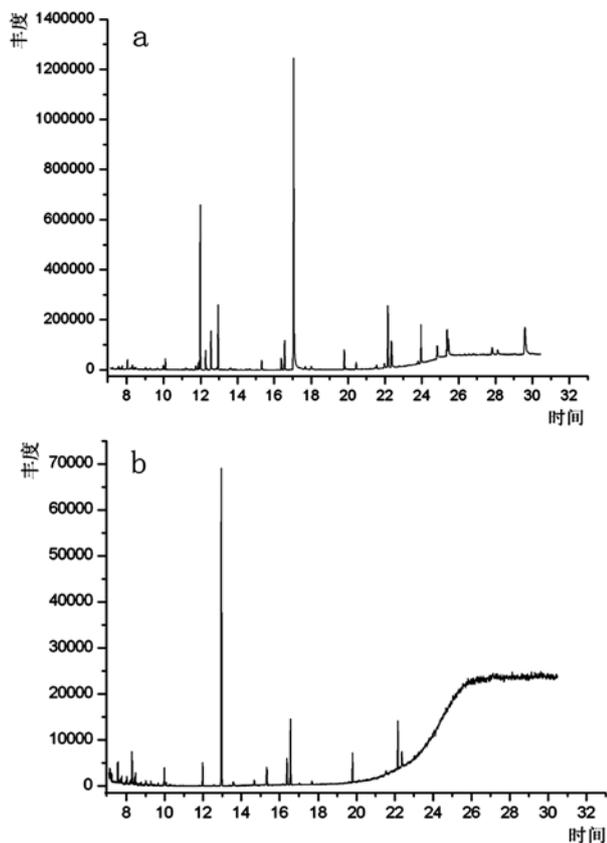


图1 GPC 净化前后 GC-MS 图  
a. 未净化；b. 净化后

表3 加样回收率及重现性

加入标准品量 (mg/kg)	实测含量 (mg/kg)	加标回收率 (%)	平均值 (%)	RSD (%)
敌敌畏	0.285	114.00%	109.20	4.80
	0.275	110.00%		
	0.259	103.60%		
β-六六六	0.247	98.80%	103.87	7.16
	0.251	100.40%		
	0.281	112.40%		
毒死蜱	0.245	98.00%	91.87	6.18
	0.217	86.80%		
	0.227	90.80%		
丙草胺	0.246	98.40%	93.87	4.90
	0.235	94.00%		
	0.223	89.20%		
溴氰菊酯	0.183	73.20%	74.67	5.37
	0.198	79.20%		
	0.179	71.60%		

2.6 实际样品测定

从市场上购买菠菜和胡萝卜，采用本方法进行分析检测，含量测定及加标回收率的结果（见表4）。

表4 实际样品含量测定结果

名称	菠菜		胡萝卜	
	含量 (mg/kg)	加标回收率 (%)	含量 (mg/kg)	加标回收率 (%)
敌敌畏	0.0109	117.9	未检出	100.6
β-六六六	未检出	79.2	未检出	110.5
毒死蜱	0.0163	105.7	未检出	98.9
丙草胺	未检出	113.8	未检出	114.9
溴氰菊酯	未检出	109.4	未检出	72.4

3 结论

本方法采用自制 GPC 净化设备，净化处理单个样品时间在 10min 以内，溶剂用量不到常规 GPC 消耗量的 10%，样品处理效率提高 2~4 倍，解决常规 GPC 净化应用中溶剂消耗量大的实际问题，可达到更为环保的效果。自制 GPC 净化设备运用于农残检测前处理中，并对其在农残检测中实际应用的效果进行考察，效果令人满意。

参考文献

- [1] 易军, 李云春, 弓振斌. 食品中农药残留分析的样品前处理技术进展 [J]. 化学进展, 2002, 14(6):415-424.
- [2] 潘灿平, 王丽敏, 孔祥雨, 等. 凝胶色谱净化 - 毛细管气相色谱法测定黄瓜、番茄和青椒中 15 种有机磷农药 [J]. 色谱, 2002, 20(6):565-568.
- [3] 张伟国, 高金山, 陈姗姗, 等. 凝胶渗透色谱 - 气相色谱 - 质谱测定玉米中 3 种农药的残留 [J]. 分析化学, 2005, 33(10):1442-1444.
- [4] 吴刚, 鲍晓霞, 王华雄, 等. 加速溶剂萃取 - 凝胶绳头色谱净化 - 气相色谱快速分析动物源性食品中残留的多种有机磷农药 [J]. 色谱, 2008, 26(5):577-582.
- [5] 于胜良, 杨桂朋, 付萌. 凝胶渗透色谱净化 - 气相色谱 / 串联质谱分析蘑菇中的 36 种农药残留 [J]. 色谱, 2007, 25(4):581-585.
- [6] 方敦煌, 师君丽, 宋春满. 凝胶渗透色谱净化烟叶有机磷、拟除虫菊酯类农药残留的研究 [J]. 中国农学通报, 2011, 27(5):269-273.
- [7] 祁彦, 占春瑞, 张新忠, 等. 高效液相色谱法测定大豆中 13 种三嗪类除草剂多残留量 [J]. 分析化学, 2006, 34(6): 787-790.
- [8] J. Engebreston, G. Hall, M. Hengel, et al. Analysis of pendimethalin residues in fruit, nuts, vegetables, grass, and mint by gas chromatography [J]. Agric. Food Chem. 2001, 49:2198-2206.
- [9] 刘咏梅, 王志华, 储晓刚. 凝胶渗透色谱技术在农药残留分析中的应用. 分析测试学报 [J], 2005,24(2):123-127.
- [10] 中华人民共和国卫生部, 中华人民共和国农业部. GB 2763-2012 食品安全国家标准 食品中农药最大残留限量 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2012.