



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 103901129 A

(43) 申请公布日 2014. 07. 02

(21) 申请号 201410128462. 1

(22) 申请日 2014. 04. 01

(71) 申请人 山东农业大学

地址 271018 山东省泰安市岱宗大街 61 号

(72) 发明人 徐志祥 唐清华 王玺龙

(51) Int. Cl.

G01N 30/02 (2006. 01)

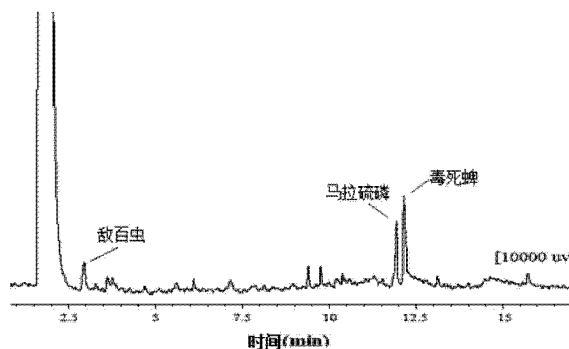
权利要求书1页 说明书4页 附图1页

(54) 发明名称

一种磁分离-气相色谱检测十种有机磷农药方法

(57) 摘要

本发明涉及一种磁分离-气相色谱检测十种有机磷农药方法,是基于固相萃取、磁分离与气相色谱联用快速检测十种有机磷农药(敌百虫、甲胺磷、乙酰甲胺磷、氧化乐果、久效磷、乐果、磷胺、甲基对硫磷、马拉硫磷和毒死蜱)方法,包括磁性固相萃取吸附剂的制备、磁分离与气相色谱联用体系的建立以及待测物中有机磷农药测定等步骤。本发明以制备的对敌百虫十种有机磷农药具有高吸附性能磁性壳聚糖微球作为吸附功能材料,采用固相萃取、磁分离与气相色谱联用,建立了一种同时对十种有机磷农药进行快速分离和高灵敏检测的方法。本发明实验操作简单,检测灵敏度高,成本低廉,适用于各种产品中痕量敌百虫等十种有机磷农药残留的检测。



1. 一种磁分离-气相色谱检测十种有机磷农药方法,其特征在于包括以下步骤:

1) 磁性壳聚糖的制备:

将 0.1mol 氯化铁和 0.2mol 氯化亚铁溶于 100mL 的 2.0mol L⁻¹ 盐酸溶液中;缓慢滴加 2.0mol L⁻¹ 的氨水至溶液 pH 调至 9.73,并在室温下剧烈搅拌 2h;依次用 100-150mL 乙醇和水各洗涤 3-5 次,真空干燥后得 γ -三氧化二铁;

取 70-90mL 液体石蜡和 3-5mL 司班 -80,40℃ 水浴中机械搅拌 30min,形成均匀的反应介质;将 0.4g 所述的 γ -三氧化二铁加到 20mL 浓度为 2% 的壳聚糖-乙酸溶液中超声混合 15-30min;在 900-1200 转/分高速搅拌条件下将混合物呈珠状流出滴加到反应介质中,继续高速搅拌 30min;再滴加 2.5mL 浓度为 50% 的戊二醛;然后用浓度为 1.0mol L⁻¹ 氢氧化钠溶液调节 pH 为 9.0,60℃ 水浴 2h;静置除去油层后进行真空抽滤,再依次用 100-150mL 的丙酮和乙醇各洗涤 3-4 次,后用 100mL 蒸馏水洗涤 5 次;真空干燥后得磁性壳聚糖微球;

2) 磁分离-气相色谱联用体系的建立:

称取 50mg 步骤 1) 制备的磁性壳聚糖微球加入到 100mL 含有敌百虫、甲胺磷、乙酰甲胺磷、氧化乐果、久效磷、乐果、磷胺、甲基对硫磷、马拉硫磷和毒死蜱十种有机磷农药的混合标准溶液中,震荡萃取 1-2h;再将上述加入磁性壳聚糖微球的有机磷农药的混合标准溶液置于磁场中使磁性壳聚糖微球和上清液分离,除去上清液后磁性壳聚糖微球用 0.5-1.5mL 甲醇/冰乙酸体积比=98:2 的甲醇/冰乙酸混合溶液涡旋震荡解吸 10-30s;此步骤重复操作 2-3 次;合并上述 2-3 次洗脱所得到的洗脱液氮吹后用 0.2mL 二氯甲烷复溶,0.22 μ m 滤膜过滤后取 1 μ L 滤液进气相色谱分析;

3) 标准曲线的绘制

准确配制浓度为 100mg L⁻¹ 含有敌百虫、甲胺磷、乙酰甲胺磷、氧化乐果、久效磷、乐果、磷胺、甲基对硫磷、马拉硫磷、毒死蜱的二氯甲烷标准溶液母液;用 99.5% 的二氯甲烷将上述二氯甲烷混合标准溶液母液分别依次梯度稀释成浓度为 0.1、0.25、0.5、1.5、2.5、5.0 和 10.0mg L⁻¹ 的标准溶液;以上述稀释后的标准溶液浓度为横坐标,以对应色谱峰面积为纵坐标,分别绘制十种有机磷农药标准曲线;

4) 待测物中有机磷农药含量的确定:

取 2.0-5.0g 经过捣碎的样品,用 10-30mL 浓度为 99.5% 的二氯甲烷溶液超声提取 3 次,合并提取液并定容至 100mL 得到样品提取液;将样品提取液代替十种有机磷标准溶液重复步骤 2) 操作,根据气相色谱的峰面积由标准曲线计算出待测样品中敌百虫、甲胺磷、乙酰甲胺磷、氧化乐果、久效磷、乐果、磷胺、甲基对硫磷、马拉硫磷和 / 或毒死蜱的含量。

一种磁分离 - 气相色谱检测十种有机磷农药方法

技术领域

[0001] 本发明涉及一种磁分离 - 气相色谱检测十种有机磷农药方法,属于食品安全检测技术领域。

背景技术

[0002] 有机磷农药是一类高效、广谱的化学杀虫剂,具有品种多、药效高、用途广等优点,在农业生产中得到了广泛的应用,已成为食品污染的主要来源之一。有机磷农药进入有机体,对生物体内胆碱酯酶有抑制作用,抑制胆碱酯酶使其失去分解乙酰胆碱的能力,造成乙酰胆碱积累,引起神经功能紊乱,从而导致对肌体的损害。长期食用有机磷农药残留微量超标的农产品,可能引起人的慢性中毒,导致疾病的发生,更严重者甚至会影响下一代,因此发展一种操作简便、灵敏度高的检测技术对解决农药残留问题尤为重要。

[0003] 农药多残留检测是国内外食品安全领域研究的热点,目前采用的方法主要有气相色谱(GC)、液相色谱(LC)、气相色谱 - 质谱(GC-MS)、液相色谱 - 质谱(LC-MS)、原子吸收光谱(AAS)、毛细管电泳(CE)等。其中色谱 - 质谱法检测灵敏度高但价格昂贵。气相色谱法则是目前最常用的有机磷农药残留检测方法。食品样品组分比较复杂,农药残留含量极低,因此在进行GC分析之前需要进行有效的提取、净化、浓缩等过程。传统的预处理方法主要有固相萃取(SPE)、液 - 液萃取(LLE)、固相微萃取(SPME)、超临界流体萃取等。近年来,磁性固相萃取(MSPE)技术被越来越多的用于样品的预处理。MSPE仅通过施加一个外部磁场即可实现相分离,因此操作简单、省时快速、无需离心过滤等繁琐操作,避免了传统SPE吸附剂需装柱和样品上样等耗时问题。因此,合成对多种有机磷农药具有高吸附能力的磁性壳聚糖微球,作为固相萃取(MSPE)吸附剂并与气相色谱联用进行分离检测,操作简单、快速,灵敏度高,在我国食品及农产品中有机磷农药多残留检测中将具有广阔的应用前景。

发明内容

[0004] 本发明的目的在于克服传统有机磷农药检测方法存在的检测时间长、成本高、前处理烦琐等缺陷,提供了一种磁性固相萃取与气相色谱联用快速分离、检测十种有机磷农药(敌百虫、甲胺磷、乙酰甲胺磷、氧化乐果、久效磷、乐果、磷胺、甲基对硫磷、马拉硫磷和毒死蜱)的方法。

[0005] 现有的固相萃取和气相色谱也可以实现十种农药检测的目的,但存在样品前处理复杂,检测速度慢的缺陷。本发明通过磁性分离,可以实现快速分离检测。

[0006] 本发明通过以下步骤实现:

[0007] 1) 磁性壳聚糖的制备:

[0008] 将0.1mol氯化铁和0.2mol氯化亚铁溶于100mL的2.0mol L⁻¹盐酸溶液中;缓慢滴加2.0mol L⁻¹的氨水至溶液pH调至9.73,并在室温下剧烈搅拌2h;依次用100-150mL乙醇和水各洗涤3-5次,真空干燥后得 γ -三氧化二铁。

[0009] 取 70-90mL 液体石蜡和 3-5mL 司班 -80, 40℃ 水浴中机械搅拌 30min, 形成均匀的反应介质; 将 0.4g 所述的 γ -三氧化二铁加到 20mL 浓度为 2% 的壳聚糖-乙酸溶液中超声混合 15-30min; 在 900-1200 转 / 分高速搅拌条件下将混合物呈珠状流出滴加到反应介质中, 继续高速搅拌 30min; 再滴加 2.5mL 浓度为 50% 的戊二醛; 然后用浓度为 1.0mol L^{-1} 氢氧化钠溶液调节 pH 为 9.0, 60℃ 水浴 2h; 静置除去油层后进行真空抽滤, 再依次用 100-150mL 的丙酮和乙醇各洗涤 3-4 次, 后用 100mL 蒸馏水洗涤 5 次; 真空干燥后得磁性壳聚糖微球。

[0010] 2) 磁分离-气相色谱联用体系的建立:

[0011] 称取 50mg 步骤 1) 制备的磁性壳聚糖微球加入到 100mL 含有敌百虫、甲胺磷、乙酰甲胺磷、氧化乐果、久效磷、乐果、磷胺、甲基对硫磷、马拉硫磷和毒死蜱十种有机磷农药的混合标准溶液中, 震荡萃取 1-2h。再将上述加入磁性壳聚糖微球的有机磷农药的混合标准溶液置于磁场中使磁性壳聚糖微球和上清液分离, 除去上清液后磁性壳聚糖微球用 0.5-1.5mL 甲醇 / 冰乙酸混合溶液 (甲醇 : 冰乙酸体积比 = 98:2) 涡旋震荡解吸 10-30s; 此步骤重复操作 2-3 次。合并上述 2-3 次洗脱所得到的洗脱液氮吹后用 0.2mL 二氯甲烷复溶, 0.22 μm 滤膜过滤后取 1 μL 滤液进气相色谱分析。

[0012] 3) 标准曲线的绘制

[0013] 准确配制浓度为 100mg L^{-1} 含有敌百虫、甲胺磷、乙酰甲胺磷、氧化乐果、久效磷、乐果、磷胺、甲基对硫磷、马拉硫磷、毒死蜱的二氯甲烷标准溶液母液。用 99.5% 的二氯甲烷将上述二氯甲烷混合标准溶液母液分别依次梯度稀释成浓度为 0.1、0.25、0.5、1.5、2.5、5.0 和 10.0mg L^{-1} 的标准溶液。以上述稀释后的标准溶液浓度为横坐标, 以对应色谱峰面积为纵坐标, 分别绘制十种有机磷农药标准曲线。

[0014] 4) 待测物中有机磷农药含量的确定:

[0015] 取 2.0-5.0g 经过捣碎的样品, 用 10-30mL 浓度为 99.5% 的二氯甲烷溶液超声提取 3 次, 合并提取液并定容至 100mL 得到样品提取液。将样品提取液代替十种有机磷标准溶液重复步骤 2) 操作, 根据气相色谱的峰面积由标准曲线计算出待测样品中敌百虫、甲胺磷、乙酰甲胺磷、氧化乐果、久效磷、乐果、磷胺、甲基对硫磷、马拉硫磷和 / 或毒死蜱的含量。

[0016] 本发明的有益效果:

[0017] 1. 本发明以制备的对多种有机磷农药具有高吸附性能的磁性壳聚糖作为吸附剂, 对样品中痕量的有机磷农药残留进行了有效的富集、分离, 简化了样品前处理步骤。

[0018] 2. 本发明将固相萃取、磁分离技术与气相色谱联用, 建立了对敌百虫、甲胺磷等十种有机磷农药具有高灵敏度的检测方法, 提高了方法的灵敏度。

[0019] 3. 本发明实验操作简单, 灵敏度高, 成本低廉, 适用于各种农产品中痕量有机磷农药多残留的快速检测。

附图说明

[0020] 图 1 为桃子样品经磁分离-气相色谱检测的色谱图。由图可知, 桃子中检测到含有敌百虫、马拉硫磷和毒死蜱, 含量分别为 0.2、0.5 和 1.0mg kg^{-1} 。

具体实施方式

[0021] 下面结合实施例, 对本发明进一步说明; 下述实施例是说明性的, 不是限定性的,

不能以下述实施例来限定本发明的保护范围。

[0022] 本发明将磁性固相萃取技术与气相色谱联用建立对敌百虫、甲胺磷、乙酰甲胺磷、氧化乐果、久效磷、乐果、磷胺、甲基对硫磷、马拉硫磷和毒死蜱具有高灵敏度的检测方法。其具体实施例为：

[0023] 1) 磁性壳聚糖的制备：

[0024] 将 0.1mol 氯化铁和 0.2mol 氯化亚铁溶于 100mL 的 2.0mol L⁻¹ 盐酸溶液中；缓慢滴加 2.0mol L⁻¹ 的氨水至溶液 pH 调至 9.73，并在室温下剧烈搅拌 2h；依次用 100mL 乙醇和水洗涤各 5 次，40℃ 真空干燥后得 γ -三氧化二铁。

[0025] 取 70-90mL 液体石蜡和 3-5mL 司班 -80，40℃ 水浴中机械搅拌 30min，形成均匀的反应介质；将 0.4g γ -三氧化二铁加到 20mL 浓度为 2% 壳聚糖-乙酸溶液中超声混合，超声 20min 后在 1000 转/分高速搅拌条件下将 γ -三氧化二铁和壳聚糖-乙酸溶液的混合物呈珠状流出滴加到反应介质中，继续高速搅拌 30min；将 2.5mL 浓度为 50% 的戊二醛滴加到反应体系，然后用浓度为 1.0mol L⁻¹ 氢氧化钠溶液调节 pH 为 9.0，60℃ 水浴 2h；静置除去油层后进行真空抽滤，依次用 150mL 丙酮、乙醇各洗涤 3 次，后用 100mL 蒸馏水洗涤 5 次，40℃ 真空干燥后得磁性壳聚糖颗粒。

[0026] 2) 磁性固相萃取-气相色谱联用体系的建立：

[0027] 以步骤 1) 制备的磁性壳聚糖作为磁性固相萃取的吸附剂，与气相色谱联用，建立磁性固相萃取与气相色谱联用检测体系。

[0028] a. 磁性固相萃取流程：

[0029] 称取 50mg 磁性壳聚糖颗粒加入到 100mL 含有十种有机磷农药(即敌百虫、甲胺磷、乙酰甲胺磷、氧化乐果、久效磷、乐果、磷胺、甲基对硫磷、马拉硫磷和毒死蜱)的混合标准溶液中，震荡萃取 1.5h。再将上述加入磁性壳聚糖微球有机磷标准溶液置于磁场中使磁性壳聚糖微球和上清液分离，除去上清液后磁性壳聚糖微球用 1.0mL 甲醇/冰乙酸混合溶液(甲醇:冰乙酸体积比=98:2)涡旋震荡解吸 20s；磁场分离、洗脱步骤重复操作 3 次。合并上述 3 次洗脱所得到的洗脱液氮吹后用 0.2mL 浓度为 99.5% 的二氯甲烷复溶，0.22 μ m 滤膜过滤，取 1 μ L 滤液进气相色谱分析。

[0030] b. 气相色谱检测：

[0031] GC-2010FPD 检测器；色谱柱：RTX-1 (30.0m \times 250 μ m \times 0.1 μ m 中性毛细管柱)；柱温：50℃，保持 1.0min，以 15℃ min⁻¹ 的速度上升到 200℃，保持 1.0min，再以 2℃ min⁻¹ 的速度上升到 220℃，最后以 20℃ min⁻¹ 的速度上升到 240℃，保持 5min。进样口温度：180℃，FPD 检测器温度：270℃，载气为高纯氮气，总流量：8.0mL min⁻¹，柱流量：1.0mL min⁻¹，吹扫流量：3.0mL min⁻¹，压力：34.1kPa，进样量：1 μ L，分流比：4:1。

[0032] 3) 标准曲线的绘制

[0033] 准确配制浓度为 100mg L⁻¹ 含有敌百虫、甲胺磷、乙酰甲胺磷、氧化乐果、久效磷、乐果、磷胺、甲基对硫磷、马拉硫磷和毒死蜱的二氯甲烷标准溶液母液。用 99.5% 的二氯甲烷依次梯度稀释成浓度为 0.1、0.25、0.5、1.5、2.5、5.0 和 10.0mg L⁻¹ 的标准溶液。以上述稀释为 0.1、0.25、0.5、1.5、2.5、5.0 和 10.0mg L⁻¹ 的标准溶液浓度为横坐标，以对应色谱峰面积为纵坐标，分别绘制十种有机磷农药标准曲线。

[0034] 4) 准确称取 5.0g 经过捣碎的桃子样品，用 30mL 99.5% 的二氯甲烷溶液超声提取 3

次,合并提取液定容至 100mL 得到样品提取液。以样品提取液代替十种有机磷标准溶液重复步骤 2) 操作,根据所得到的气相色谱图确定桃子中含有敌百虫、马拉硫磷和毒死蜱。根据峰面积,由标准曲线计算出桃子中敌百虫、马拉硫磷和毒死蜱的含量分别为 0.2、0.5 和 1.0mg kg⁻¹。

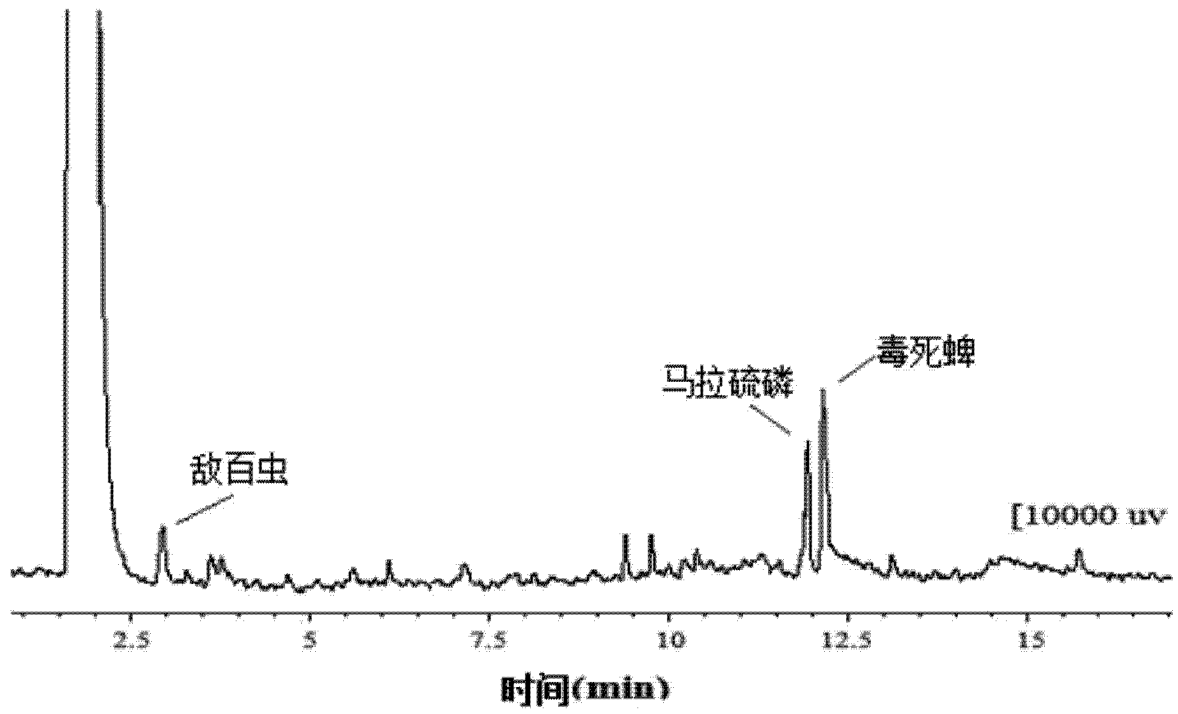


图 1