

·药物分析·

葡萄糖原料碎米中 12 种有机磷农药残留快速检测

陈爱军^{1,2}, 张喜利², 张云莉³, 贺福元², 刘珊², 刘文龙^{2*}, 刘平安²

(1 湖南环境生物职业技术学院, 湖南 衡阳 421005; 2 湖南中医药大学中药超分子实验室, 湖南 长沙 410208;

3. 湖南安乡县北河口血防站, 湖南 常德 415600)

〔摘要〕 目的 建立一种快速检测碎米中有机磷农药残留量的方法, 用于注射用葡萄糖原料碎米的质量监控。方法 采用气相色谱法与氮磷检测器(NPD)快速检测碎米中的 12 种农药残留。结果 所建立的方法学的线性范围是 0.1~5.0 ppm, 检出限为 0.98~6.24 ppb, 检测限为 3.27~20.8 ppb, 相关系数均大于 0.999 5; 精密度、重复性的 RSD 均在 6.3% 以下; 回收率在 87.25%~108.4%。结论 本文建立了碎米中有机磷农药残留的快速检测方法, 为注射用葡萄糖的制备筛选出合格的碎米原料提供了有效保障。

〔关键词〕 碎米; 注射用葡萄糖; 气相色谱; 有机磷农药残留

〔中图分类号〕 R917

〔文献标识码〕 A

〔文章编号〕 doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2016.05.009

Studies on the High-Speed Determination of the 12 Organophosphates Pesticides Residues in the Broken Rice for the Raw Material of Glucose Injection

CHEN Aijun^{1,2}, ZHANG Xili², ZHANG Yunli³, HE Fuyuan², LIU Shan², LIU Wenlong^{2*}, LIU Pingan²

(1. Hunan Polytechnic of Environment and Biology, Hengyang, Hunan 421005, China; 2. Laboratory of Supramolecular TCM, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410007, China; 3. Hunan Schistosomiasis Control Station in Beihokou Anxiang, Changde, Hunan 415600, China)

〔Abstract〕 objective To establish a determination method of the organophosphate in the broken rice, which can be used to control the glucose-injection quality. **Methods** 12 kinds of pesticides residues were rapid detected by using gas chromatography adding NDP detector. **Results** The linear range in the established determination method was 0.1~5.0 ppm, the limit of detection was 0.98~6.24 ppb, the limit of qualification was 3.27~20.8 ppb, and the correlation coefficient were all more than 0.995. Furthermore, the RSDs of the precision and repeatability tests were under 6.3%, the coefficient of recovery was between 87.25%~108.4%. **Conclusion** This study had established a set of method to detect scientific organophosphorus pesticide residues. It will provide effective guarantee for screen raw broken-rice materials of the injection glucose.

〔Keywords〕 broken rice; injection glucose; gas chromatography; organophosphorus pesticide residues

近年来临床上葡萄糖注射液的需求量逐年增大、有供不应求的趋势^[1]。目前注射用葡萄糖的生产几乎都是以玉米为原料, 经过 NOVO 法酶解而成。然而对以稻谷为主要农作物的我国而言, 玉米的产量并不多。从而使得以玉米为原料生产供注射用葡萄糖的周期长、产量低、成本高^[2]。因此, 寻求一种供制备注射用葡萄糖的新原料物种已经成为关注的焦点问题。为此, 国内许多专家曾试图以大米为原料研制开发供注射用的葡萄糖, 但由于以大米为原料的生产成本较高、工序过长等原因而使得其产业停滞不前^[3-4]。基于现阶段的碾

米技术, 在稻谷碾制过程中势必会产生约 10% 左右的碎米。这些碎米大多当成废物而被廉价处理用于燃料、饲料生产等领域。如果将其开发应用, 作为供注射用葡萄糖的另一种新型原料, 无疑将赋予碎米新的附加值。众所周知, 碎米是稻谷碾磨时产生的糠壳, 几乎所有的农药残留都富集在这个部位, 因此有必要研究建立一种适宜碎米的农药残留量的快速检测方法, 检测控制碎米原料的质量。课题组对用大(碎)米为原料制成注射用葡萄糖已做了大量研究, 同时对有机氯和拟除虫菊酯类农残进行了研究报道^[5-7], 本文旨在继续建

〔收稿日期〕 2015-09-28

〔基金项目〕 国家自然科学基金项目(30901971, 81270055); 湖南省自然科学基金项目(14JJ2110, 14JJ7061)。

〔作者简介〕 陈爱军, 女, 讲师, 研究方向: 天然药物开发及活性成分的研究。

〔通讯作者〕 * 刘文龙, 男, 副教授, 硕士研究生导师, E-mail: dragon5240@126.com。

立碎米中有机磷农药残留的快速检测方法。

1 材料

1.1 仪器

SP-6890型气相色谱仪(山东鲁南瑞虹化工仪器有限公司),Kromat PC-50色谱柱(30 m×0.32 mm, 0.25 μm,北京科瑞迈科技有限责任公司),N2000色谱数据工作站(浙江大学),R201D-II旋转蒸发器(郑州长城科工贸有限公司),T-214万分之一电子天平(北京赛多利斯丹佛),1 μL微量进样器(上海高鸽工贸有限公司)。

1.2 药品与试剂

碎米采购于湖南各地区的粮食局。混合有机磷农药(敌敌畏、乐果、甲基对硫磷、马拉硫磷含量分别为49.2、52.3、49.5、52.1、50.3 mg/L,批号335603,环境保护部标准样品研究所)。乙硫磷(0.100 g/L,样品编号BW3458 08001,中国计量科学研究院)。杀扑磷(1.00 g/L,样品编号BW3454-2 09001,中国计量科学研究院)。二嗪农(0.99 g/L,样品编号BW3457-2 09001,中国计量科学研究院)。甲胺磷(1.00 g/L,样品编号BW3532 09002,中国计量科学研究院)。久效磷[(1.00 g/L,样品编号GBW(E)081142 09002,中国计量科学研究院)]。乙酰甲胺磷[(1.00 g/L,样品编号GBW(E)081143 09001)]。乙酸乙酯、无水硫酸钠、正己烷(均为分析纯,天津化学试剂有限公司)。活性炭小柱(120~400目,0.25 g,内径0.9 cm)。

2 方法与结果

2.1 供试品的制备

2.1.1 对照品溶液的制备 (1)精密称取敌敌畏、硫磷、二嗪农、甲基对硫磷、杀扑磷、乐果、马拉硫磷、氧化乐果、甲胺磷、乙硫磷、久效磷、乙酰甲胺磷农药对照品各适量,分别用乙酸乙酯溶解,定容制成每1 mL均含约100 μg的单一对照品储备溶液,保存备用。(2)混合对照品储备液的制备 精密量取上述各对照品储备液1.00 mL,置同一20 mL棕色量瓶中,加乙酸乙酯稀释定容至刻度,即得。(3)混合对照品溶液的制备 精密量取上述混合对照品储备液适量,用乙酸乙酯定容制成每1 mL含各对照品0.1、0.5、1.0、2.0、5.0 μg的溶液,即得。

2.1.2 供试样品溶液的制备^[8] 参照2015年版《中华人民共和国药典》第四部农药残留量测定法:分别取自各地区粮食局购买的碎米原料供试样品约5 g,精密称定,加无水硫酸钠5 g,加入乙酸乙酯50~100 mL,冰浴超声处理3 min,放置,取上层液滤过,滤渣加乙酸乙酯30~50 mL,冰浴超声处理2 min,放置,滤过,合并两次滤液,用少量乙酸乙酯洗涤滤纸

及残渣,与上述滤液合并。取滤液于40℃以下减压浓缩至近干,用乙酸乙酯转移至5 mL量瓶中,并稀释至刻度,精密量取1 mL,置活性炭小柱(120~400目,0.25 g,内径0.9 cm,乙酸乙酯5 mL预洗),用正己烷-乙酸乙酯(1:1)混合液5 mL洗脱,收集洗脱液,用氮吹仪吹至近干,精密加入乙酸乙酯1 mL使溶解,即得。

2.2 方法学考察

2.2.1 色谱条件与系统适用性试验 用PC-50 Kromat(30 m×0.32 mm, 0.25 μm),采用氮磷检测器(NPD)检测,进样口温度为230℃,检测器温度为300℃,分流比为10:1,氢气压为0.02 MPa,空气压为0.02 MPa,柱头压0.05 MPa,尾吹为0.06 MPa,吹扫是20 mL/min,铷珠加热器电流为2.8A。程序升温:初始120℃,保持1 min,以每分钟10℃的速率升至200℃,保持10 min,再以每分钟5℃的速率升至240℃,保持2 min,然后以每分钟20℃的速率升至270℃,保持5 min。理论板数按敌敌畏峰计算不低于6 000,两个相邻色谱峰的分离度均大于1.5。采用“2.1”项下的方法制得供试品溶液和对照品溶液,分别进行色谱测定。结果见图1。

2.2.2 线性范围、检测限及定量限考察 分别精密吸取上述对照品溶液1.0 μL注入气相色谱仪,测定其相应色谱峰的峰面积。以样品浓度(ppm)为横坐标,其相应峰面积为纵坐标,绘制标准曲线并进行线性回归分析,结果见表1。

结果表明:所测的12种有机磷农药其浓度在0.1~5.0 ppm,峰面积与相应进样量呈现良好的线性关系,可作为定量分析工作曲线。以3倍信噪比进行计算得12种有机磷农药的检出限(LOD)为0.98~6.24 ppb。

2.2.3 精密度及回收率考察 精密吸取上述对照品溶液1.0 μL,按“2.2.1”项中色谱分析条件,重复进样测定5次,将结果列于表2。根据表2的结果,可以得出该法的仪器精密度的RSD在2.62%~6.24%,回收率在87.25%~108.4%,表明为此方法良好。

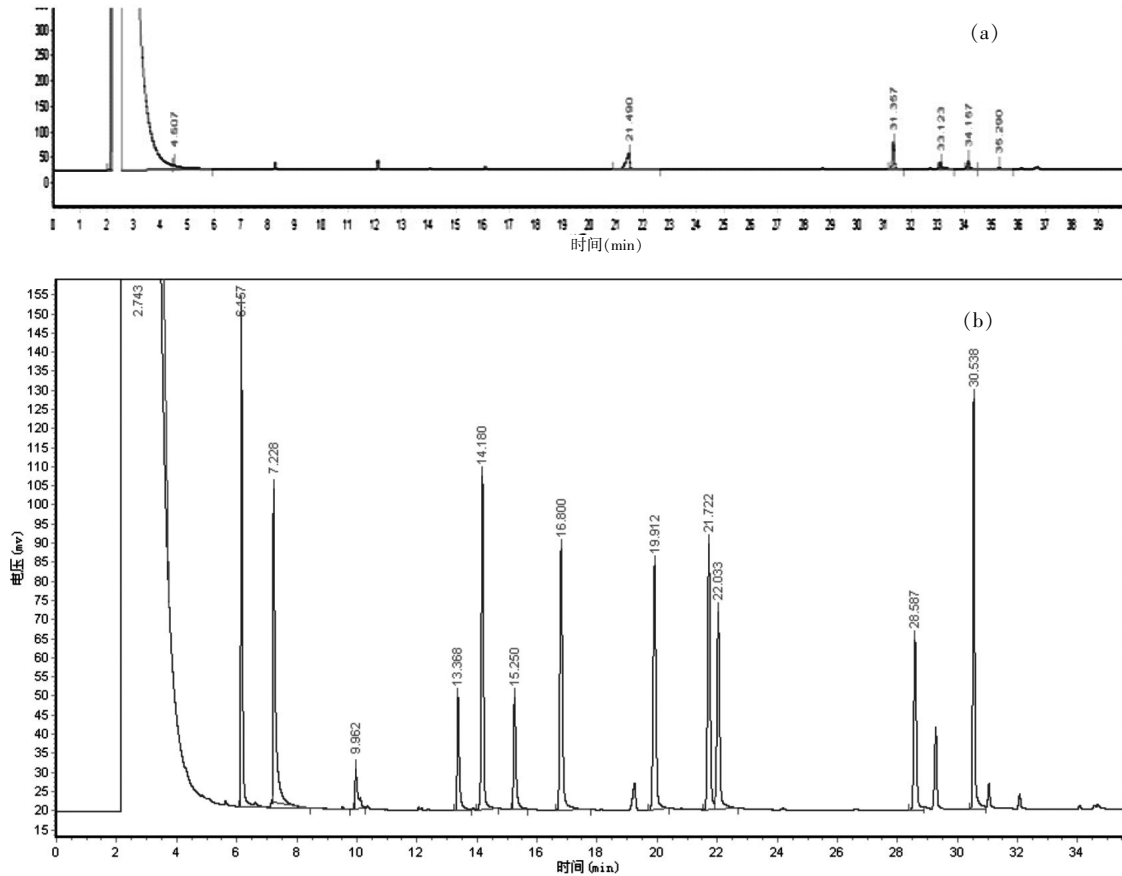
2.2.4 重复性试验 任取一批碎米样品(湖南邵阳),一式6份,按“2.1.2”项下方法制备,在添加同一混标后重复测定5次,其RSD值均在0.73%~5.21%,表明重复性较好。

以上实验数据表明:所建立的方法可适用于碎米中有机磷的残留量检测,此法能快速地测定碎米中的12种有机磷的残留量。

2.2.5 样品测定 称取所购买的5批碎米样品,照“2.1.2”和“2.2.1”项下的方法制备和测定。测定结果见表3。

3 讨论

在稻米种植生产过程中,特别是在谷粒生长期,如频繁喷洒各种农药,就会使得稻谷成品的农残



a 为样品峰;b 为十二种有机磷农药标准品峰,依次为敌敌畏、甲胺磷、乙酰甲胺磷、氧化乐果、二嗪农、久效磷、乐果、马拉硫磷、对硫磷、甲基对硫磷、杀扑磷、乙硫磷

图1 有机磷农药残留的系统适应性图谱

表1 有机磷农药残留测定线性范围考察结果

名称	不同样品浓度的相应峰面积					线性方程及回归系数	LOD(ppb)
	0.1 ppm	0.5 ppm	1.0 ppm	2.0 ppm	5.0 ppm		
敌敌畏	35 019.1	89 590.7	192 305.1	404 468.1	973 821.3	$y=194\ 136x+5\ 127.1, r=0.999\ 2$	6.24
甲胺磷	17 333.0	62 996.7	194 508.2	383 260.5	994 667.8	$y=202\ 020x-16\ 921, r=0.998\ 8$	3.21
乙酰甲胺磷	1 377.9	8 076.6	34 375.5	51 962.6	161 907.9	$y=32\ 892x-5\ 033.9, r=0.991\ 3$	0.98
氧化乐果	1 555.4	18 125.1	62 765.7	146 393.9	382 785.6	$y=79\ 306x-14\ 081, r=0.998\ 7$	1.21
二嗪农	34 309.6	109 244.1	206 911.6	420 364.6	969 909.8	$y=191\ 439x+18\ 874, r=0.999\ 2$	6.01
久效磷	5 350.6	28 622.9	75 225.4	162 811.8	428 809.2	$y=87\ 557x-10\ 434, r=0.999\ 3$	1.98
乐果	29 546.2	86 066.9	211 681.9	401 577.3	998 157.4	$y=199\ 193x+2\ 793.7, r=0.999\ 3$	5.98
马拉硫磷	28 883.9	91 634.6	205 694.6	396 458.2	942 625.5	$y=187\ 234x+11\ 017, r=0.999\ 3$	4.58
对硫磷	29 520.4	93 397.8	207 708.3	372 878.3	884 084.0	$y=174\ 094x+18\ 076, r=0.999\ 0$	5.02
甲基对硫磷	20 303.1	71 327.2	163 049.6	292 559.0	734 400.6	$y=145\ 684x+5\ 750.9, r=0.999\ 4$	4.21
杀扑磷	13 326.1	57 442.5	127 867.2	238 194.2	572 333.2	$y=113\ 797x+6\ 101.5, r=0.999\ 3$	3.98
乙硫磷	25 694.3	107 868.1	233 078.3	435 585.5	1038 675.7	$y=206\ 089x+13\ 708, r=0.999\ 3$	5.41

超标,严重影响其质量与安全性。为此国家科技部已建立了农药有害残留物检测技术平台^[9-11]。此外国内许多专家学者也对不同产地、不同药材、采用包括气相色谱^[12-16]等不同测定方法对有机磷农残进行了研究,取得了系列成果^[17-20]。

有关有机磷残留量的检测有许多报道,然而是否适宜于碎米样品的农残检测未见报道。本实验用气相色谱法,采用氮磷检测器和石英毛细管柱,对

12种有机磷农药残留量展开快速测定研究。一则确认药典方法对碎米应用的适宜性;二则考察是否需要对其进行优化。在实验过程中,发现甲胺磷与乙酰甲胺磷较难分离,如用OV-17柱、SE-30柱、DB-624柱都较难分开,但采用Kromat PC-50柱能得到较好分离;氮磷检测器的灵敏度较难控制,如电流值大小、氢气与空气的比例等对其影响较大。

据报道^[21],我国进出口商品检验行业标准规定:

表2 精密度与回收率试验结果

(n=5)

成分	0.1 μg/mL		2.0 μg/mL		5.0 μg/mL	
	回收率(%)	精密度(%)	回收率(%)	精密度(%)	回收率(%)	精密度(%)
敌敌畏	98.24	4.57	96.57	5.24	99.27	4.62
甲胺磷	87.25	4.87	88.27	5.12	90.57	4.96
乙酰甲胺磷	98.24	5.03	102.5	4.87	108.4	4.61
氧化乐果	102.4	3.78	98.91	4.02	107.5	2.62
二嗪农	89.24	5.32	90.87	4.99	98.05	4.78
久效磷	91.96	5.01	95.21	6.01	93.07	3.22
乐果	108.2	6.24	105.2	5.21	100.5	5.33
马拉硫磷	87.96	4.88	88.24	5.07	91.23	3.13
对硫磷	90.98	4.28	93.27	4.77	98.87	3.81
甲基对硫磷	93.62	5.23	96.37	4.28	98.12	4.33
杀扑磷	105.2	4.98	102.1	4.11	99.88	4.81
乙硫磷	99.24	5.3	101.1	3.89	105.4	2.73

表3 样品农药残留测定结果

(ppm)

成分	批次					限量(ppm)
	邵阳	常德	郴州	岳阳	株洲	
敌敌畏	\	\	\	\	\	0.01
甲胺磷	\	\	\	\	\	0.01
乙酰甲胺磷	\	\	\	0.562	\	0.02
氧化乐果	1.217	1.977	0.327	0.871	1.137	0.005
二嗪农	0.049	\	\	\	\	0.01
久效磷	\	\	\	\	\	0.002
乐果	10.330	19.430	\	\	\	0.005
马拉硫磷	\	\	\	\	\	0.01
对硫磷	\	\	\	\	\	0.01
甲基对硫磷	\	\	\	\	\	0.01
杀扑磷	0.975	2.686	0.829	0.506	0.492	0.2
乙硫磷	3.242	7.611	0.367	\	0.096	0.02

注：“\”表示未检出。

粮食中有机磷农药允许残留量为甲胺磷<0.1 mg/kg, 蔬菜、水果中允许残留量敌百虫<0.2 mg/kg、乐果<1.0 mg/kg, 药品中的有机磷农药残留远远低于这一限定值。而本次实验测定的碎米样品中均不同程度含有有机磷残留, 而且偏高。

由表3结果可知, 所购买的每一批碎米样品均含有不同种类的、微量的有机磷类农药残留, 如果以此等碎米为原料经酶解制成的供注射用葡萄糖, 不仅大大增加了此工艺的难度, 同时也影响了产品的最终质量。故应提前考虑碎米原料有机磷农药残留量, 用本文建立的快速检测方法筛选出合格的碎米原料至关重要。

参考文献:

- [1] 中国行业研究报告网讯.2009-2012年中国大米行业市场运行局势与发展前景分析报告[N].http://www.chinairr.org;2002-01-14.
- [2] 李展文,姜旭朝.山东A集团年产6万吨结晶葡萄糖项目财务可行性研究[D].青岛:中国海洋大学,2009;21.
- [3] 华渤文,赵锦芳,王金华,等.重组大肠杆菌利用不同培养基发酵产

琥珀酸的研究[J].食品工业科技,2013,34(6):227-230.

- [4] 周 昱,杨 君,杨 青.亚洲玉米螟的O-β-N-氨基乙酰葡萄糖基水解酶(OFOGA)的基因克隆及重组表达[J].中国生物工程杂志,2012,32(5):36-42.
- [5] 刘文龙,贺福元,杨岩涛,等.注射用葡萄糖的原料碎米中拟除虫菊酯残留量研究[J].食品科技,2013,38(8):203-206.
- [6] 刘文龙,贺福元,杨岩涛,等.碎米双酶解成注射用葡萄糖的液化糖化工艺研究[J].食品工业科技,2013,34(6):236-241.
- [7] 刘文龙,贺福元,杨岩涛,等.注射用葡萄糖的原料碎米中有机氯残留量研究[J].食品科技,2013,38(3):307-311.
- [8] 国家药典委员会.中华人民共和国药典·四部[S].北京:中国医药科技出版社,2015:210.
- [9] 张贵君,刘墨祥,杨 舒,等.常用中药安全性检测[M].北京:化学工业出版社,2008:1-29.
- [10] 张 园,张 琦,王贤亲.固相萃取-气相色谱串联质谱法测定温莪术中19种有机氯和有机磷农药残留[J].药物分析杂志,2012,32(1):95-99.
- [11] 王海涛,张 睿,姚燕林,等.高效液相色谱-串联质谱法检测中药材中有机磷农药残留量[J].分析实验室,2011,30(1):72-75.
- [12] 邱绿琴,吴宗彬,徐小作,等.中药中8种有机磷农药残留的检测方法研究[J].中国实验方剂学杂志,2010,16(12):67-70.
- [13] 陆继伟,苗 水,毛秀红.固相萃取-气相色谱双塔双柱法同时测定中药材中53种有机磷类农药残留量[J].中成药,2010,32(1):94-99.
- [14] 吴丽华.气相色谱法快速检测小麦中多种农药残留[J].食品与机械,2013,29(4):71-75.
- [15] 刘 畅,路 磊.试纸法快速检测果蔬中有机磷及氨基甲酸酯类农药残留[J].中国食品学报,2012,12(6):154-158.
- [16] 薛 岚.电喷雾解吸电离串联质谱法快速检测果蔬表面残留有机磷农药[J].理化检验:化学分册,2011,47(10):1 218-1 221.
- [17] 常海静,刘洋洋,江 红,等.酯酶显色法快速检测尖音库蚊对有机磷的抗性[J].中国媒介生物学及控制杂志,2011,22(4):332-335.
- [18] 杨玉霞,莫仁甫,王天顺,等.果蔗中10种有机磷农药多残留分析方法[J].南方农业学报,2013,44(2):230-233.
- [19] 焦爱军,冯 洁,赖茂祥.GC-MS测定两面针中8种有机氯农药残留量[J].中药材,2013,36(4):528-531.
- [20] 贺福元,邓凯文,刘文龙,等.葡萄糖应用生产现状及碎(大)米酶法制成注射用葡萄糖的巨大优势[J].湖南中医药大学学报,2010,30(12):68-71.
- [21] 蒋以号,刘 伟,曹 晖,等.GC-MS法对怀山药饮片六种农药残留量的测定[J].中药材,2011,34(12):1 841-1 843.

(本文编辑 苏 维)