

# 紫菜中六六六、滴滴涕和扑草净的检测\*

周明莹<sup>1</sup> 曲克明<sup>1</sup> 陈碧鹃<sup>1</sup> 谢寒冰<sup>2</sup> 王联珠<sup>1①</sup> 邵会<sup>3</sup> 顾晓慧<sup>4</sup>

(1. 农业部海洋渔业可持续发展重点实验室 中国水产科学研究院黄海水产研究所 青岛 266071;

2. 山东省青岛市菜篮子商品质量监督检测中心 青岛 266071;

3. 青岛大学医学院 青岛 266021; 4. 中国海洋大学 青岛 266100)

**摘要** 利用气相色谱-质谱联用技术测定紫菜中六六六、滴滴涕和扑草净的残留量。试样用乙腈提取,经石墨化炭黑/氨基复合柱净化,采用气相色谱-电子轰击源质谱测定,检测模式采用选择离子监测(SIM),外标法定量。研究结果显示,六六六方法定量限为 5.0 μg/kg,滴滴涕为 2.5–5.0 μg/kg,扑草净为 2.5 μg/kg。各组分加标回收率在 78.5%–112.0%之间,相对标准偏差在 3.6%–10.3%之间。结果表明,该方法简便、快速,其准确度和精密度能够满足紫菜中六六六、滴滴涕和扑草净同时检测的要求。

**关键词** 气相色谱-质谱;六六六;滴滴涕;扑草净;紫菜

**中图分类号** X836 **文献标识码** A **文章编号** 1000-7075(2014)06-0128-05

六六六(HCHs)与滴滴涕(DDTs)属于有机氯农药,曾作为杀虫剂广泛使用在农业生产中;扑草净(Prometryn)是一种三嗪类(又称均三氮苯类)除草剂,主要用来防治一年生阔叶杂草,近几年,在水产养殖业,扑草净也被用来防除养殖池塘的水草和有害藻类(陈溪等,2013)。以上3种农药理化性质比较稳定,使用的主要环境问题是其残留时间长、降解缓慢,能够长期存在于土壤、水体中,随地表径流进入河流、湖泊,汇入大海。从近年出现的池塘肥水困难,沿海贝类生长速度下降等情况分析,可能与水田、旱田、沿海池塘大量使用除草剂有关。

进入海洋中的有机污染物,极易被海洋中经济海藻吸附(曹煜成等,2012),造成海藻中较高的农残含量。2006年5月,日本通报检测出我国干紫菜中扑草净残留量超出肯定列表中的一致标准(0.01 mg/kg),虽然经过我国的据理投诉,日本最终于2007年1月修改了肯定列表,将紫菜中扑草净限量放宽到0.14–0.19 mg/kg(紫菜基本合格),但此事已引起国内及国际社会对海藻中农药残留的关注,敲响了我海藻中

农残超标的警钟。有关藻类 HCHs、DDTs 和扑草净的检测方法,目前我国还没有统一标准。为了维护消费者利益、维护水产品正常出口,严格控制海藻中的农药残留量,制定与国际水平相当的检测方法势在必行。

诸多的 HCHs、DDTs 检测方法中,紫外分光光度法、高效液相色谱法灵敏度低,气相色谱法不是确证方法,确证检测方法主要为气相色谱-质谱法和液相色谱-串联质谱法。考虑到检测成本以及方法的开展和普及,本研究利用气相色谱-质谱联用检测技术,以紫菜为研究对象,同时测定3种农药的残留量。该方法简便、快速,样品前处理净化效果好,准确度、精密度均能满足农药残留分析的要求。

## 1 材料与方法

### 1.1 试剂与材料

甲苯、乙腈均为色谱纯(美国 TEDIA 公司);无水硫酸钠(国药集团化学试剂有限公司):分析纯,550℃

\* 国家海洋局环保项目[DOME(P(MEA)-02)和“十二五”国家科技支撑计划(2012BAD29B06)共同资助。周明莹, E-mail: zhoumy@ysfri.ac.cn

① 通讯作者:王联珠,研究员, E-mail: wanglz@ysfri.ac.cn

收稿日期:2013-11-08, 收修改稿日期:2014-03-08

高温灼烧 4 h, 冷却后密封存放; 无水硫酸镁(国药集团化学试剂有限公司): 分析纯; 氯化钠(天津科密欧试剂开发中心): 优级纯; HCHs、DDTs 混合标准溶液:  $\alpha$ -HCH、 $\beta$ -HCH、 $\gamma$ -HCH、 $\delta$ -HCH、p, p'-DDE、p, p'-DDD、o, p'-DDT、p, p'-DDT 各单体的浓度均为 100  $\mu\text{g/ml}$ ; 扑草净(纯度 $\geq 99\%$ )(均购自德国 Dr. Ehrenstorfer 公司)。

混合标准溶液配制: 扑草净先用乙腈配制成 100  $\mu\text{g/ml}$  标准溶液, 再与 HCHs、DDTs 标准溶液等体积混合, 用甲苯配成各组分浓度均为 1.0  $\mu\text{g/ml}$  的混合标准溶液。使用时再分别采用逐级稀释的方法用甲苯或乙腈配制系列浓度的混合标准工作液。

## 1.2 主要仪器与设备

Agilent 7890 气相色谱仪(美国 Agilent 公司), 配 5975 MSD 检测器, 电子电离源(EI 源); 旋转蒸发设备(日本 Tokyo Rikakikai 公司); 超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司); 旋涡振荡器(德国 IKA 仪器公司); Milli-Q 超纯水仪(美国密理博公司); 离心机(德国 Sigma 公司); 石墨化碳/氨基复合柱 500 mg/500 mg/6 ml (博纳艾杰尔科技); Visiprep<sup>TM</sup>-DL 型固相萃取装置(美国 Supelco 公司)。

## 1.3 气相色谱-质谱条件

色谱柱: DB-5 MS 石英毛细管柱(30 m $\times$ 0.25 mm $\times$ 0.25  $\mu\text{m}$ )。柱温箱升温程序: 起始温度 100 $^{\circ}\text{C}$ , 保持 1 min, 以 15 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$  梯度升温至 280 $^{\circ}\text{C}$ , 保持 5 min。进样口温度: 280 $^{\circ}\text{C}$ 。载气(高纯氦气, 纯度 $\geq 99.999\%$ )。流速: 0.7 ml/min。进样方式: 不分流进样。进样体积: 1  $\mu\text{l}$ 。离子源电离能量: 70 eV。离子源温度: 230 $^{\circ}\text{C}$ 。传输线温度: 280 $^{\circ}\text{C}$ , 四极杆温度: 150 $^{\circ}\text{C}$ 。溶剂延迟时间: 7 min。

## 1.4 提取

称取 2 g 粉碎好的干紫菜样品(精确至 0.01 g)于 250 ml 锥形瓶中, 加入 10 ml 水振摇 2 min, 静置 10 min。加入 25 ml 乙腈, 再加入 6 g 无水硫酸镁和 1.5 g 氯化钠, 于超声波清洗器提取 20 min, 转移于 100 ml 离心管中, 3500 r/min, 离心 5 min, 倾出上清液于浓缩瓶中。重复提取一次, 合并上清液, 40 $^{\circ}\text{C}$  水浴旋转蒸发浓缩至约 1 ml。

## 1.5 净化

在石墨化碳/氨基复合柱中加入约 2 cm 高的无水硫酸钠, 用 10 ml 3:1(v/v)的乙腈/甲苯混合溶剂活化, 当液面到达硫酸钠的顶部时, 将浓缩后的提取液用 3 $\times$ 2 ml 的 3:1(v/v)的乙腈/甲苯混合溶剂全部转移至该柱

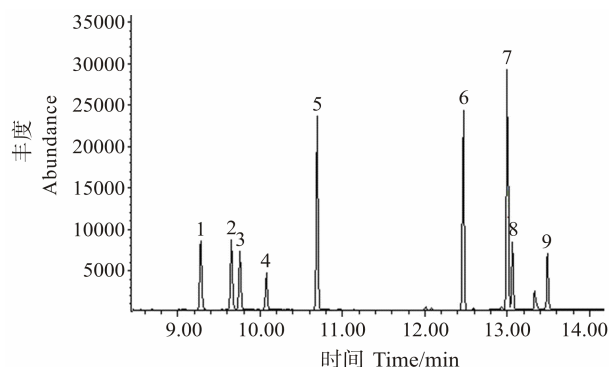
上(注意小柱不得干涸)。然后用 2 $\times$ 2 ml 3:1(v/v)的乙腈/甲苯混合溶剂洗脱, 收集所有流出液体, 在 40 $^{\circ}\text{C}$  条件下旋转蒸发, 浓缩至 1 ml。加入 10 ml 丙酮, 再浓缩至干。用 1.0 ml 乙腈溶解残渣, 用于 GC/MS 分析。

## 1.6 定性及定量分析

目标化合物的定性采用全扫描方式, 首先配制一个浓度稍高的标准溶液, 进行全扫描测定(Scan), 确定每种目标物的保留时间和特征离子, 再应用选择离子扫描模式(SIM)分别对选定的特征离子进行分组扫描。选择质量数较大、相对丰度较大的碎片离子作为定量离子, 依此原则再选择 2 个碎片离子作为定性离子, 以定量离子和定性离子共流出与否以及丰度比来判断样品是否含有目标化学物, 由定量离子积分来定量。SIM 方式下 HCHs、DDTs 和扑草净的定量离子及定性离子见表 1。HCHs、DDTs 和扑草净的选择离子监测总离子流见图 1。

表 1 HCHs、DDTs 和扑草净定量和定性离子  
Tab.1 The characteristic ions of HCHs, DDTs and prometryn

化合物 Compound	定量离子 Quantitative ion ( <i>m/z</i> )	定性离子 Qualitative ions ( <i>m/z</i> )
$\alpha$ -HCH	181	181, 183, 219
$\beta$ -HCH	219	181, 183, 219
$\gamma$ -HCH	181	181, 219, 109
$\delta$ -HCH	181	181, 183, 219
p, p'-DDE	246	246, 318, 316
p, p'-DDD	235	235, 237, 178
o, p'-DDT	235	235, 237, 212
p, p'-DDT	235	235, 237, 212
扑草净 Prometryn	241	241, 184, 226



$\alpha$ -HCH; 2.  $\beta$ -HCH; 3.  $\gamma$ -HCH; 4.  $\delta$ -HCH; 5. 扑草净; 6. p, p'-DDE; 7. p, p'-DDD; 8. o, p'-DDT; 9. p, p'-DDT

图 1 HCHs、DDTs 和扑草净的总离子流  
Fig.1 Total ion current chromatogram of HCHs, DDTs and prometryn

## 2 结果与讨论

### 2.1 提取溶剂的选择

研究了乙腈、乙酸乙酯、丙酮:正己烷(1:1) 3种溶剂的提取效果。对比研究发现,3种有机溶剂的提取效率都很好。在添加水平为100 μg/kg时,各组分的回收率在78.5%–110.2%之间。但是通过基质空白和试剂空白研究发现,用乙酸乙酯和丙酮:正己烷(1:1)两种溶剂提取后,色谱峰干扰较严重,而乙腈提取之后得到的谱图干扰较少,因此,研究中采用乙腈作为提取剂。考虑到扑草净属于有机碱类化合物,具有一定的碱性(张敬波等,2006),提取时加入适量的水中显弱酸性的硫酸镁,可起到中和作用。另外,在用乙腈提取时,由于乙腈与水互溶,研究时加入氯化钠,可以改变乙腈在水中的溶解度,增大水相的密度,使乙腈与水相完全分离,提高提取效率。

### 2.2 净化方法的选择

由于紫菜中含有较多的色素和其他诸如胡萝卜素、叶绿素、维生素、蛋白质等成分,如果在上机进样前没有得到有效的去除,就会对仪器造成污染,并且会对定性、定量产生干扰。本研究运用固相萃取技术对提取液进行净化,石墨化炭黑可以去除紫菜中大量色素和油脂的干扰,氨基固相萃取小柱能够将非水溶液中的中等极性和极性化合物吸附,而极性较弱的HCHs、DDTs和扑草净将随洗脱液流出。采用石墨化炭黑/氨基小柱复合柱,减少了重复过柱、浓缩的步骤,收到事半功倍的效果。

### 2.3 方法线性范围、相关系数和定量限

用紫菜阴性样品提取液配制目标物质量浓度分

别为0.01、0.05、0.1、0.2、0.5、1.0 μg/ml的系列标准工作溶液,在气相色谱-质谱设定条件下分别进样,以定量离子峰面积为纵坐标,工作溶液浓度为横坐标,绘制标准工作曲线,得到回归方程和相关系数的平方( $R^2$ )见表2。研究结果表明,目标化合物标准曲线的相关系数的平方均在0.995以上,说明各化合物在线性范围内有很好的相关性,符合分析质量保证的要求。结合空白基质加标谱图,以测定结果的信噪比(S/N)大于10的最小浓度为定量限(LOQ)。本方法中HCHs、DDTs和扑草净定量限见表2。

### 2.4 准确度和精密度

选用紫菜阴性样品进行加标回收率和重复性实验,以考察方法的准确度和精密度。研究选择5、25、100 μg/kg 3个不同浓度水平,每个浓度水平平行测定6次。研究结果见表3。

### 2.5 实际样品测定

采用上述方法,分别对江苏省连云港养殖区生产的5批条斑紫菜进行检测。检测结果是,5批紫菜样品中有3批检出 $\alpha$ -HCH,两批检出p, p'-DDT,有一批分别检出 $\delta$ -HCH和p, p'-DDD,但含量都在定量限附近;有两批检出扑草净,但很微量,低于2007年1月修改后的日本《肯定列表》对扑草净残留量的规定。检测结果见表4。

## 3 结语

以紫菜为研究对象,采用乙腈提取,石墨化炭黑/氨基复合柱净化,很好地消除了紫菜中色素、蛋白质、脂类等各类干扰物的影响。利用气相色谱-质谱联用

表2 HCHs、DDTs和扑草净的保留时间、回归方程、相关系数、线性范围和定量限  
Tab.2 Retention time, regression equation, correlation coefficient, linear range and limit of quantification of HCHs, DDTs and prometryn

目标物 Compound	保留时间 Retention time (min)	回归方程 Regression equation	相关系数 Correlation coefficient ( $R^2$ )	线性范围 Linear range (μg/kg)	定量限 Limit of quantification (μg/kg)
$\alpha$ -HCH	9.29	$y = 5.17 \times 10^3 x - 75.4$	0.999	5.0–500	5.0
$\beta$ -HCH	9.65	$y = 4.87 \times 10^3 x - 84.1$	0.999	5.0–500	5.0
$\gamma$ -HCH	9.75	$y = 4.08 \times 10^3 x - 73.6$	0.999	5.0–500	5.0
$\delta$ -HCH	10.09	$y = 2.43 \times 10^3 x - 64.3$	0.999	5.0–500	5.0
p, p'-DDE	12.46	$y = 1.86 \times 10^4 x - 209$	0.999	2.5–500	2.5
p, p'-DDD	13.00	$y = 2.90 \times 10^4 x - 463$	0.999	2.5–500	2.5
o, p'-DDT	13.07	$y = 3.96 \times 10^3 x - 78.5$	0.998	5.0–500	5.0
p, p'-DDT	13.50	$y = 2.23 \times 10^3 x - 58.4$	0.995	5.0–500	5.0
扑草净 Prometryn	10.70	$y = 1.43 \times 10^4 x - 177$	0.999	2.5–500	2.5

表 3 HCHs、DDTs 和扑草净回收率及精密度试验结果( $n=6$ )  
Tab.3 Spiked recoveries and relative standard deviation of HCHs, DDTs and prometryn

目标物 Compound	添加量 Spiked levels					
	5 $\mu\text{g}/\text{kg}$		25 $\mu\text{g}/\text{kg}$		100 $\mu\text{g}/\text{kg}$	
	平均回收率 Average recovery (%)	相对标准偏差 RSD (%)	平均回收率 Average recovery (%)	相对标准偏差 RSD (%)	平均回收率 Average recovery (%)	相对标准偏差 RSD (%)
$\alpha$ -HCH	95.80	5.17	99.14	4.25	101.35	4.19
$\beta$ -HCH	93.01	6.33	95.90	5.45	97.03	3.65
$\gamma$ -HCH	110.24	7.10	105.68	5.84	105.42	4.40
$\delta$ -HCH	103.20	8.85	102.65	6.17	104.44	5.36
p, p'-DDE	96.88	5.32	97.08	4.57	98.32	4.96
p, p'-DDD	78.54	6.19	93.28	6.10	98.73	5.31
o, p'-DDT	107.17	8.46	101.00	9.86	103.32	9.72
p, p'-DDT	112.16	9.94	103.17	10.26	105.94	8.94
扑草净 Prometryn	88.78	4.58	95.97	3.90	98.45	3.56

表 4 条斑紫菜检测结果\*  
Tab.4 Test results of *Porphyra yezoensis*

目标物 Compound	测定值 Measured value ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ Dry weight)				
	1	2	3	4	5
	$\alpha$ -HCH	6.5	5.2	5.4	ND
$\beta$ -HCH	ND	ND	ND	ND	ND
$\gamma$ -HCH	ND	ND	ND	ND	ND
$\delta$ -HCH	5.4	ND	ND	ND	ND
p, p'-DDE	ND	ND	ND	ND	ND
p, p'-DDD	3.2	ND	ND	ND	ND
o, p'-DDT	ND	ND	ND	ND	ND
p, p'-DDT	ND	5.3	5.6	ND	ND
扑草净 Prometryn	3.1	3.8	ND	ND	ND

\*ND 为未检出, Not detected

检测技术, 同时测定紫菜中 HCHs、DDTs 和扑草净 3

种农药的残留量。该方法简便、快速, 样品前处理净化效果好, 溶剂用量少。准确度、精密度均能满足食品中农药残留分析的要求。

## 参 考 文 献

- 张敬波, 姜文凤, 董振霖, 等. 气相色谱法同时测定玉米中 12 种三嗪类除草剂的残留量. 色谱, 2006, 24(6): 648-651
- 陈溪, 刘梦遥, 曲世超, 等. 海产品、底泥、海水中扑草净药物残留量的液相色谱-串联质谱检测. 化学通报, 2013, 76(2): 183-186
- 杨云, 栾伟, 罗学军. 微波辅助萃取-固相萃取联用气相色谱-质谱法测定土壤中的扑草净. 分析化学, 2004, 23(6): 775-778
- 杨云, 关碧晖, 李攻科. 固相微萃取-气相色谱-质谱联用分析水中的痕量扑草净. 分析实验室, 2002, 21(4): 19-22
- 曹煜成, 王少沛, 李卓佳, 等. 微绿球藻、隐藻和颤藻竞争氮磷营养的通径分析. 渔业科学进展, 2012, 33(4): 99-106

(编辑 陈严)

## Residual Determination Method of HCHs, DDTs and Prometryn in Porphyra

ZHOU Mingying<sup>1</sup>, QU Keming<sup>1</sup>, CHEN Bijuan<sup>1</sup>, XIE Hanbing<sup>2</sup>,  
WANG Lianzhu<sup>1①</sup>, SHAO Hui<sup>3</sup>, GU Xiaohui<sup>4</sup>

(1. Key Laboratory of Sustainable Development of Marine Fisheries, Ministry of Agriculture, Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao 266071; 2. Qingdao Quality Supervision and Inspection Center for Shopping Basket Commodity, Qingdao 266071; 3. Medical College of Qingdao University, Qingdao 266021; 4. Ocean University of China, Qingdao 266100)

**Abstract** Seaweed is one kind of phycophyta living on the rock in shallow intertidal. Porphyra is a kind of important economic algae, and it mainly includes *Porphyra haitanensis*, *Porphyra yezoensis* and *Porphyra suborbiculata* Kjellm. The organic pollutants in the marine environment are easily adsorbed by the ocean algae, causing high levels of pesticide residues. Pesticide pollutants in seaweed have seriously restricted the development of Chinese seaweed industry, which inhibits the expanding of international market. However, there are no nationwide standard methods to measure HCHs, DDTs and prometryn in algae. The current study developed new methods to measure the pollutants. Gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) was used to determine HCHs, DDTs and prometryn in porphyra. Pesticide residues were extracted with acetonitrile, cleaned-up by Cleanert PestiCarb/NH<sub>2</sub> SPE cartridge, and were determined by GC-EI/MS in the selected ion monitoring mode (SIM). The data was identified and quantified with the exterior standard method. The results showed that the limit of quantification (LOQ) in porphyra of HCHs, DDTs, and prometryn were 5.0, 2.5–5.0, and 2.5 µg/kg, respectively. The efficiencies of extract pesticides were between 78.5% and 112.0%, and the relative standard deviations were from 3.6% to 10.3%. These results suggest that we have developed an easy, fast, and accurate method to simultaneously determine HCHs, DDTs and prometryn in algae.

**Key words** Gas chromatography-Mass spectrometry; HCHs; DDTs; Prometryn; Porphyra

① Corresponding author: WANG Lianzhu, E-mail: wanglz@ysfri.ac.cn