

孙鑫,张丹,张小帆,等.活体固相微萃取-气相色谱法测定小白菜中3种农药残留[J].华中农业大学学报,2022,41(5):248-256.
DOI:10.13300/j.cnki.hnlkxb.2022.05.030

活体固相微萃取-气相色谱法测定小白菜中 3种农药残留

孙鑫,张丹,张小帆,李秀娟

华中农业大学食品科学技术学院/环境食品学教育部重点实验室/
果蔬加工与品质调控湖北省重点实验室,武汉 430070

摘要 为指导小白菜合理施用农药、降低农药残留水平,采用采样速率法对活体固相微萃取技术进行定量校正,结合气相色谱法对小白菜中3种农药(百菌清、毒死蜱和氟虫腈)进行了活体采样和定量测定,研究小白菜中农药的吸收、富集和消解行为。结果显示:活体检测方法准确、灵敏、快速、便捷;光照和温度均能促进3种农药降解;施药方式会影响农药的吸收,叶面喷洒施药后,小白菜对3种农药的吸收速率更快;培养方式会影响农药降解,土培方式的小白菜中农药消解速率比水培方式更快;采后贮藏对农药的降解也有一定影响,贮藏温度对于百菌清的消解速率影响不大,而低温能够延缓毒死蜱和氟虫腈的消解。结果表明,3种农药中百菌清的稳定性最差,氟虫腈在4℃条件下的稳定性最好,毒死蜱在常温和4℃条件下均比较稳定。

关键词 活体固相微萃取;气相色谱法;小白菜;农药残留;环境行为;食品安全

中图分类号 TS207.5+3 **文献标识码** A **文章编号** 1000-2421(2022)05-0248-09

小白菜(*Brassica chinensis* L.)是一种在我国广泛种植的绿叶蔬菜,占长江中下游蔬菜种植面积的30%~40%^[1]。在种植过程中,农民通常会使用化学农药来控制 and 消灭小白菜病虫害,但由于缺乏对安全使用农药的认知,常造成蔬菜中农药残留超标,不利于人类健康。例如,氟虫腈及其代谢物砒可诱导人肝细胞死亡^[2]。溴虫腈由于其高持久性对环境造成了很大的负面影响^[3]。研究温度、光照、种植方式等环境行为对小白菜农药残留的影响可以更合理地施用农药,降低农药的残留水平、人类健康风险和环境污染。

农药残留分析通常包括样品制备和仪器测定2个步骤。其中,样品制备是一个关键步骤,它包括从样品中提取和富集目标物质,同时要尽量降低基质干扰。样品制备直接影响分析结果的准确性和精密度。传统的样品制备方法如固相萃取和液相萃取需要样品均质,然后进行萃取、分离和纯化,整个过程耗时且费力,并且需要大量的有机溶剂。最重要的是,这些样品制备方法对生物体是破坏性的,无法跟

踪监测复杂生物体中残留物的动态变化,在采样过程中分析物可能还会损失或者发生形态变化。

近年来,研究者将目标转向了适合活体生物的样品预处理技术。活体固相微萃取(*in vivo* solid-phase microextraction, *in vivo* SPME)技术^[4]集采样、提取、浓缩和进样为一体,允许探针直接暴露于生物组织而不造成致命损伤,可以实现对生物个体中分析物的长期监测,并准确显示复杂生物体内内源性物质和外源性物质的动态变化情况。由于无需样品运输和存储步骤,可以提供更准确、快速的分析数据,从而更好地显示生命系统中的真实情况。Lendor等^[5]采用液相色谱-质谱结合代谢组学方法,研究大鼠死亡后1h内影响其海马体的死亡诱导变化,使用固相微萃取探针针对每只动物在活体和死后在相同大脑区域进行采样,结果发现在大鼠死亡后30min脑神经化学发生显著变化,且随着死亡时间增加进一步变化。

本研究以采样速率法进行定量校正,建立了活体固相微萃取-气相色谱方法(*in vivo* SPME/GC),

收稿日期:2022-05-20

基金项目:中央高校基本科研业务费专项(2662020SPPY015);湖北省农业科技创新中心项目(2019-620-000-001-31)

孙鑫,E-mail:2954651086@qq.com

通信作者:李秀娟,E-mail:lixujuan@mail.hzau.edu.cn

并通过直接固相微萃取-气相色谱方法(direct immersion solid-phase microextraction/gas chromatography, DI-SPME/GC)进行对比验证,对小白菜中常用的3种农药(百菌清、毒死蜱和氟虫腈)进行准确定量,探讨不同环境因素对小白菜中3种农药消除动力学的影响,以及不同农药在小白菜可食用部位中的吸收、富集和消解,以期为植物活体中农药的跟踪监测及环境行为研究提供技术支持。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

1)小白菜(*Brassica chinensis* L.)种子购自江苏宿迁景趣园艺店,种植在温度适宜、光照充足的室外盆栽土壤中。将每株长有3~4片叶子的幼苗从盆中取出,转移到盛有营养土的种植箱中继续栽培,1~2周后开始喷洒农药,开展试验。

2)主要试剂。甲醇、丙酮、乙腈购自国药集团化学试剂有限公司,均为分析纯。试验用水均为超纯水。市售农药百菌清(75%可湿性粉剂)购自浙江威尔达化工有限公司,毒死蜱标准品(99%)和氟虫腈标准品(99%)购自上海阿拉丁生化科技股份有限公司。

1.2 仪器与设备

GC-8850型气相色谱仪(电子捕获检测器,ECD),山东鲁南瑞虹化工有限公司;GC-8850系列气相色谱工作站,浙江大学智达信息工程有限公司;SE-54毛细管柱(30 m × 0.32 mm × 0.25 μm),兰州中科安泰分析科技有限公司;CT-1型氮氢空气发生器,武汉科林普丰仪器有限公司;自制SPME手柄;58 μm甲基丙烯酸-二乙烯基苯-N-乙烯基吡咯烷酮介孔分子筛萃取头(methacrylic acid-divinylbenzene-N-vinyl pyrrolidone@mesoporous molecular sieve, MAA-co-DVB-co-NVP@MCM-41)参考文献[6]制备。

以高纯氮气为载气,流速1.0 mL/min,空气0.095 MPa,氢气0.065 MPa,尾气0.075 MPa,分流进样,分流比为4:1,电流0.5 nA。柱温:初始温度100 °C,以20 °C/min升温至180 °C,以10 °C/min升温至240 °C,5 °C/min升至260 °C,保持10 min,程序结束。进样口温度280 °C,ECD检测器温度290 °C。

1.3 试验方法

1)小白菜施药。百菌清农药(75%可湿性粉剂)按照1:4 000的比例兑水配制溶液,毒死蜱和氟虫腈使用标准品配制成质量浓度50 μg/mL的溶液,用于小白菜施药。每次施药从上下前后左右对小白菜表

面进行喷洒,尽量均匀分布。

2)DI-SPME操作。准确称取一定量的小白菜,切段,按照料液质量比1:3添加超纯水,用料理机打浆。在10 g小白菜匀浆中添加50 μL农药混标(百菌清0.5 mg/mL、毒死蜱1 mg/mL、氟虫腈1 mg/mL),磁力搅拌15 min混匀,4 °C冰箱放置12 h。取10 g配好的加标匀浆分装至10 mL萃取瓶中,加入磁子,盖紧瓶盖。在1 200 r/min的搅拌速度下60 °C萃取40 min。萃取完成后,取出萃取头于超纯水中快速漂洗5 s,然后于280 °C的GC进样口解吸10 min,解吸完毕后以甲醇-丙酮(体积比1:1)混合溶剂洗涤1 min,再使用无尘纸擦拭。将萃取头在280 °C解吸5 min,继续分析下一个样品。

3)*in vivo* SPME操作。首先使用22规注射针头插入小白菜茎中约2 cm进行预打孔,拔出注射针后,将老化过的MAA-co-DVB-co-NVP@MCM-41萃取头插入预先打好的小孔中。萃取一段时间后,拔出萃取头,用密封垫堵住针头使其处于密封状态,置于装有冰块的保温装置中迅速返回实验室,转入-18 °C冰箱存放,待进样前取出于超纯水中快速漂洗2 s,使用无尘纸轻轻蘸干萃取头表面残留的水滴,随后在290 °C GC进样口解吸10 min。解吸过后使用甲醇-丙酮(体积比1:1)混合溶剂清洗1 min,并使用蘸有上述混合溶剂的无尘纸小心擦拭涂层表面,然后在280 °C下老化5 min,即可进行下一次萃取。

4)采样速率校准法。根据采样速率法^[7]原理,样品的初始浓度 C_0 由传统的直接SPME/GC-ECD法求得, n 为活体采样所得分析物的萃取量(配制系列浓度的标准溶液,直接以GC检测绘制定量曲线而确定),采样时间 t 已知。根据上述数据,可以求得活体采样速率 R_s ,用于计算活体样品中分析物的浓度。

$$C_0 = \frac{n}{R_s t} \quad (1)$$

1.4 不同光照条件下小白菜的农药降解试验设计

按照本文“1.3”,将配制好的100 mL农药混合溶液对2箱小白菜进行施药。施药后,分别放置在室外阳光直射处和室内阴凉通风处,在施药后2、6、12、24、36、48、60、72和96 h进行测定。每次取小白菜周围均匀分布的3个点同时采样,视为3个平行,采样时间为20 min,将活体采样后的萃取头带回实验室检测。分别求出小白菜在光照和无光照条件下的消解曲线和消解半衰期。小白菜中单一农药消解过程中的浓度采用一阶动力学方程计算,同时可得消解半

衰期($t_{1/2}$)^[8]。

1.5 不同温度下小白菜的农药降解试验设计

按照本文“1.3”方法,将配制好的100 mL农药混合溶液对3箱小白菜进行施药,分别放置在40、25和8℃下,于施药后2、6、12、24、32、36、48、60、72和96 h采样。

1.6 不同培养方式下小白菜的农药降解试验设计

水培方式:试验前1 d,将小白菜植株从土壤中取出,用去离子水洗涤其根系,然后转移至添加了营养液的水中进行培养。24 h后,在营养液中加入农药混合溶液,培养液中每种农药质量浓度均为10 μg/mL,对照组小白菜在不加标但加营养液的水中培养,确保仅菜根与溶液接触。分别在小白菜暴露于加标溶液后的12、24、36、48和72 h测量植株茎中的农药质量浓度。暴露72 h后将植株转移到另一不加标但加营养液的溶液中进行降解试验,之后每隔12 h采用 *in vivo* SPME/GC法跟踪测定茎中3种农药的浓度,直至试验结束。

土培方式:小白菜的试验步骤同本文“1.5”,常温下进行。对比2种培养方式小白菜对3种农药的吸收和降解情况。

1.7 不同贮藏温度下采后小白菜的农药降解试验设计

将配制好的100 mL的农药混合溶液按照本文“1.3”的方法对小白菜进行施药,施药24 h后采摘并带回实验室,分别在常温(20℃)贮藏和低温(4℃)贮藏。在贮藏过程中的第12、24、36、48、72、96、120和168小时进行原位固相微萃取采样,操作同 *in vivo* SPME。采样后,萃取头立即插入GC进样口进行检测。

1.8 数据处理

试验数据如未作说明,均为3次测定的平均值。数据处理采用Excel和SPSS 26软件进行分析,绘图采用Origin 2018版本软件。采用ANOVA进行方差分析,显著性方差分析法为LSD, $\alpha=0.05$ 。

2 结果与分析

2.1 萃取头使用寿命的评价结果

通过计算同一根萃取头在试验过程中反复萃取相同加标浓度的小白菜样品的峰面积,得到使用12、24、39、54、75次的萃取结果,如图1所示,萃取峰面积有小幅度的波动,但是在使用75次后没有明显的下降,不同萃取次数间结果无显著性差异。由此可以

看出,该萃取头可以在复杂的真实样品基质中连续萃取75次以上,具有较长的使用寿命,可用于真实样品检测。

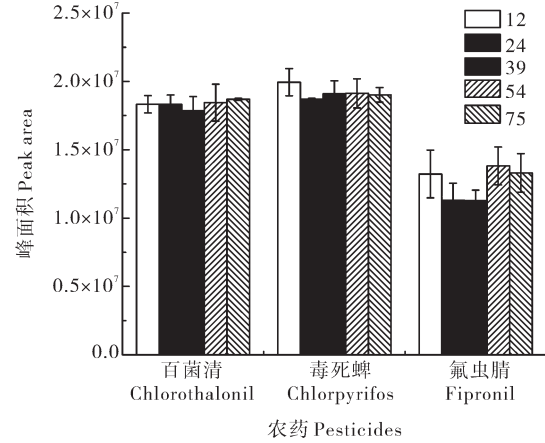


图1 MAA-co-DVB-co-NVP@MCM-41 萃取头在小白菜中的使用次数

Fig.1 The used times of MAA-co-DVB-co-NVP@MCM-41 fiber in pakchoi

2.2 3种农药的活体采样速率

由于SPME是一种非完全萃取技术,萃取涂层的容量远远小于样品体积,且采样时间短,从样品基质中萃取出分析物的量极少,采样后样品中目标分析物的浓度可以保持不变。因此,在活体SPME采样后再通过直接固相微萃取/气相色谱方法(DI-SPME/GC)测定植株中农药含量 C_0 。根据采样速率公式(1)计算了活体采样速率 R_s ,结果见表1。

表1 3种农药在小白菜中的活体采样速率

Table 1 *in vivo* sampling rates of three pesticides in pakchoi

分析物 Analyte	$C_0/(\mu\text{g/g})$	$R_s/(\text{mg/min})$
百菌清 Chlorothalonil	1.541±0.100	0.179±0.010
毒死蜱 Chlorpyrifos	0.742±0.020	0.195±0.006
氟虫腈 Fipronil	0.631±0.041	0.357±0.027

2.3 不同检测方法的对比评价结果

依据3倍信噪比计算 *in vivo* SPME/GC方法的检出限(LOD),10倍信噪比计算定量限(LOQ)^[9]。小白菜中百菌清、毒死蜱和氟虫腈的LOD分别为1.28、0.37和0.19 μg/kg,其LOQ分别为4.27、1.23和0.63 μg/kg。该方法具有较低的检测限,证明其具有较高的灵敏度,且远低于食品安全国家标准中农药的最大残留限量值(百菌清5 000 μg/kg、毒死蜱20 μg/kg和氟虫腈20 μg/kg),能够满足检测要求。较低的RSDs值(3.61%~11.94%)表明 *in vivo* SPME

采样方法的重复性较好。将 *in vivo* SPME/GC 检测方法与文献中检测方法进行对比,结果如表2所示。*in vivo* SPME 技术相较于 QuEChERs、LLE 以及石墨烯量子点荧光检测等技术而言灵敏度更高,且不需要复杂的前处理过程,更为方便、快捷和环保;同时具有可接受的 RSD,方法精密度良好。通过与 DI-SPME/GC 方法的比较,验证了 *in vivo* SPME/GC 方法的准确性。

在监测过程中,同时采用 *in vivo* SPME、DI-

SPME 2种方法测定小白菜中农药含量。如表3所示,2种方法测定的小白菜中农药含量相似,说明 *in vivo* SPME 具有良好的准确性和可行性。此外,该方法还极大简化了试验步骤,比 DI-SPME/GC 法以及传统的 LE/GC 法更方便、更高效、更快速。

图2为 *in vivo* SPME/GC 方法测定小白菜中3种农药的气相色谱图。由图2可见,该方法对于小白菜中不同质量浓度的3种农药均能检出,具有较低的检出限和较高的灵敏度。

表2 本方法与其他文献中的农药检测方法对比

Table 2 Comparison of the proposed method with other methods reported in literature for determination of pesticides

方法 Method	基质 Matrix	分析物 Analyte	检出限/ ($\mu\text{g}/\text{kg}$) LOD/	定量限/ ($\mu\text{g}/\text{kg}$) LOQ	相对标准偏 差/% RSD	参考文献 Reference
石墨烯量子点荧光检测 Graphene quantum dot fluorescence detection	黄瓜 Cucumber	多菌灵、啉虫脒、毒死蜱 Carbendazim, acetamiprid, chlorpyrifos	0.28	—	—	[10]
QuEchERs-HPLC-MS/ MS	茶叶 Tea	氟虫脒及其代谢物 Fipronil and its metabolites	0.30	1.0	1.30~4.60	[11]
LLE-GC/ECD	大白菜等6种蔬菜 Chinese cabbage and other 5 kinds of vegetables	毒死蜱、百菌清等6种农药 Chlorpyrifos, chlorothalonil and other 4 pesticides	—	10	1.00~14.00	[12]
QuEchERs-GC/ NICI-MS	菠菜等5种蔬菜 Spinach and other 4 kinds of vegetables	氟虫脒 Fipronil	0.20~0.30	1.0	2.20~7.60	[13]
<i>in vivo</i> SPME/ GC-ECD	小白菜 Pakchoi	毒死蜱、百菌清、氟虫脒 Chlorpyrifos, chlorothalonil and fipronil	0.19~1.28	0.63~4.27	3.61~11.94	本研究 This study

表3 *in vivo* SPME 和 DI-SPME 在不同监测时间测定的小白菜中3种农药含量对比

Table 3 Comparison of the content of 3 pesticides in pakchoi obtained by *in vivo* SPME and DI-SPME at different monitoring time

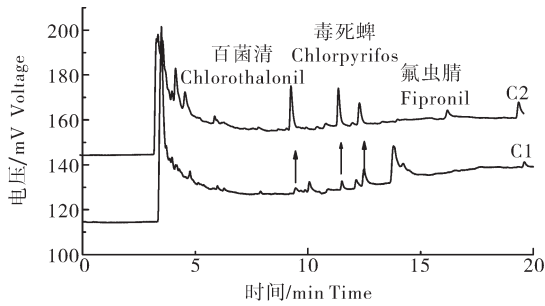
分析物 Analyte	方法 Method	24 h	48 h	216 h
百菌清 Chlorothalonil	<i>in vivo</i> SPME	1.45±0.05b	5.77±0.22a	1.52±0.07b
毒死蜱 Chlorpyrifos	DI-SPME	1.45±0.11b	5.79±0.07a	1.52±0.20b
毒死蜱 Chlorpyrifos	<i>in vivo</i> SPME	2.88±0.06b	4.19±0.07a	1.50±0.02c
氟虫脒 Fipronil	DI-SPME	2.88±0.17b	4.18±0.02a	1.50±0.10c
氟虫脒 Fipronil	<i>in vivo</i> SPME	0.49±0.01b	2.50±0.25a	0.61±0.03b
氟虫脒 Fipronil	DI-SPME	0.50±0.01b	2.52±0.14a	0.60±0.03b

注:不同字母代表不同处理组之间结果的显著性差异。下同。Note: Different letters represent significant differences of results between different treatment groups. The same as below.

2.4 光照对小白菜农药降解的影响

图3为 *in vivo* SPME 采样方法监测小白菜分别在室内阴凉通风处和室外强光下农药的吸收与消解曲线。由图3可知,小白菜对于3种农药的吸收均在24 h内达到最大值,室外光照下百菌清、毒死蜱和氟虫脒的最高含量分别为0.13、0.71和1.11 $\mu\text{g}/\text{g}$,室内条件下最高含量分别为0.10、0.75和1.69 $\mu\text{g}/\text{g}$ 。之

后开始消解。通过非线性拟合曲线方程(R^2 的范围为0.927 6~0.986 1)得到百菌清、毒死蜱和氟虫脒在室内条件下的消解半衰期分别为14.35、2.23和15.36 d;在室外强光照下的消解半衰期分别为1.63、0.27和0.78 d。结果表明,3种农药在强烈光照条件下的消解速率要远远快于室内阴凉条件下,不同的物质受光照影响不同,氟虫脒受光照影响最大。



C1: 百菌清 0.147 $\mu\text{g/g}$, 毒死蜱 0.324 $\mu\text{g/g}$, 氟虫腈 0.442 $\mu\text{g/g}$;
C2: 百菌清 0.931 $\mu\text{g/g}$, 毒死蜱 0.575 $\mu\text{g/g}$, 氟虫腈 0.986 $\mu\text{g/g}$ 。
C1: Chlorothalonil 0.147 $\mu\text{g/g}$, chlorpyrifos 0.324 $\mu\text{g/g}$, fipronil 0.442 $\mu\text{g/g}$;
C2: Chlorothalonil 0.931 $\mu\text{g/g}$, chlorpyrifos 0.575 $\mu\text{g/g}$, fipronil 0.986 $\mu\text{g/g}$ 。

图2 小白菜中3种农药残留的气相色谱图

Fig.2 GC chromatogram of 3 pesticides in pakchoi

2.5 温度对小白菜农药降解的影响

图4为 *in vivo* SPME 采样方法监测小白菜分别在 8、25 和 40 $^{\circ}\text{C}$ 下农药的吸收与消解曲线, 分别模拟了冬季、春秋季节和夏季环境温度条件, 探究温度对 3 种农药降解的影响。8 $^{\circ}\text{C}$ 下百菌清、毒死蜱和氟虫腈的最高含量分别为 3.68、0.59 和 4.08 $\mu\text{g/g}$, 25 $^{\circ}\text{C}$ 的最高含量分别为 3.12、0.99 和 1.69 $\mu\text{g/g}$, 40 $^{\circ}\text{C}$ 的最高含

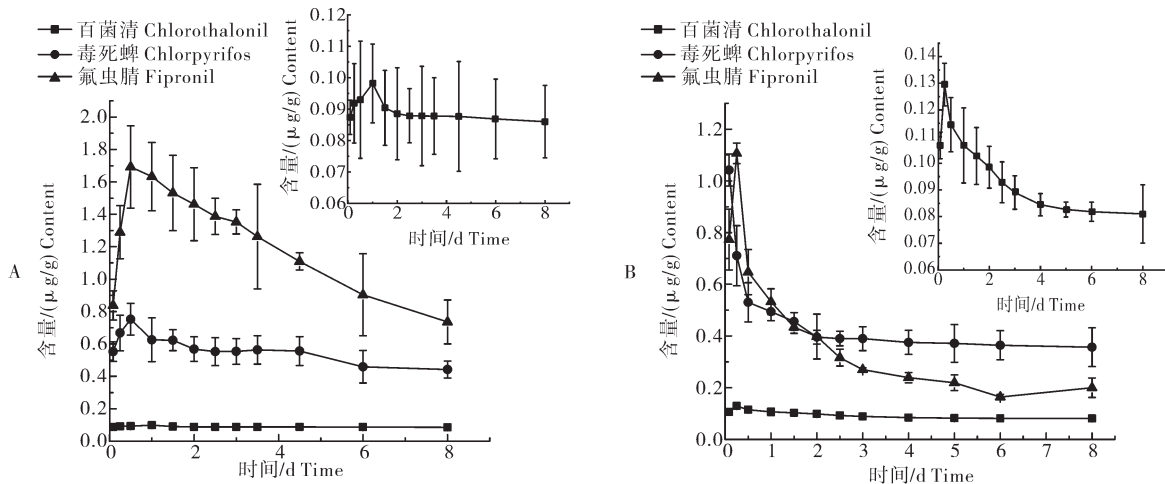


图3 活体追踪室内(A)和室外光照下(B)小白菜中农药随时间的变化曲线

Fig.3 *in vivo* SPME tracing of pesticides in indoor (A) and outdoor (B) pakchoi

由表4可见, 通过水中添加农药的方式进行施药, 百菌清在施药后第1天在茎部的含量大于叶面的, 经过一段时间内的迁移后, 在跟踪的第8天叶面的含量高于茎部的。同样, 通过叶面喷洒施药后百菌清在叶面的含量于第1天高于茎部的, 第8天仍高于茎部的, 说明百菌清更容易残留在小白菜的叶面部位。而毒死蜱和氟虫腈通过水中施药时茎部含量高于叶面的, 但通过叶面喷洒施药时叶面含量反而

量分别为 1.00、0.30 和 1.43 $\mu\text{g/g}$, 温度越高, 最大残留含量越低。通过非线性拟合曲线方程 (R^2 为 0.919 8~0.975 0) 得到百菌清在 8、25 和 40 $^{\circ}\text{C}$ 下的消解半衰期分别为 4.11、0.46 和 0.45 d; 毒死蜱的消解半衰期分别为 2.66、1.90 和 0.51 d; 氟虫腈的消解半衰期为 4.97、4.07 和 2.83 d。结果表明, 3 种农药在小白菜中的半衰期均随温度的升高而缩短, 温度越高, 降解速率越快。

2.6 不同培养方式小白菜中农药的吸收与消解

由图5可以看出, 在土培方式下通过叶面喷洒施药后毒死蜱在 1.5 d 后达到最高含量 6.15 $\mu\text{g/g}$, 百菌清和氟虫腈在第2天达到最高含量 5.77 和 2.51 $\mu\text{g/g}$, 之后开始消解。而水培方式下通过水中添加 3 种农药均在第3.5天达到最高含量 0.37、0.44 和 0.51 $\mu\text{g/g}$, 说明通过叶面喷洒方式, 小白菜对 3 种农药的吸收速率更快。百菌清、毒死蜱和氟虫腈在土培方式下半衰期分别为 0.45、0.66 和 0.22 d, 而水培方式下消解半衰期分别为 2.51、0.80 和 4.07 d, 说明土培方式的小白菜消解速率比水培方式更快。

高于茎部的, 检测结果随施药方式不同而变化, 没有呈现出明显的倾向性, 也可能是跟踪时间不够长。

2.7 贮藏温度对农药消解的影响

图6为原位 SPME 监测小白菜分别在模拟冷藏 (4 $^{\circ}\text{C}$) 和常温 (20 $^{\circ}\text{C}$) 贮藏温度条件农药的吸收与消解曲线, 显示了贮藏温度对 3 种农药降解的影响。4 $^{\circ}\text{C}$ 下百菌清、毒死蜱和氟虫腈的最高含量分别为 39.97、4.45 和 2.75 $\mu\text{g/g}$, 25 $^{\circ}\text{C}$ 的最高含量分别为

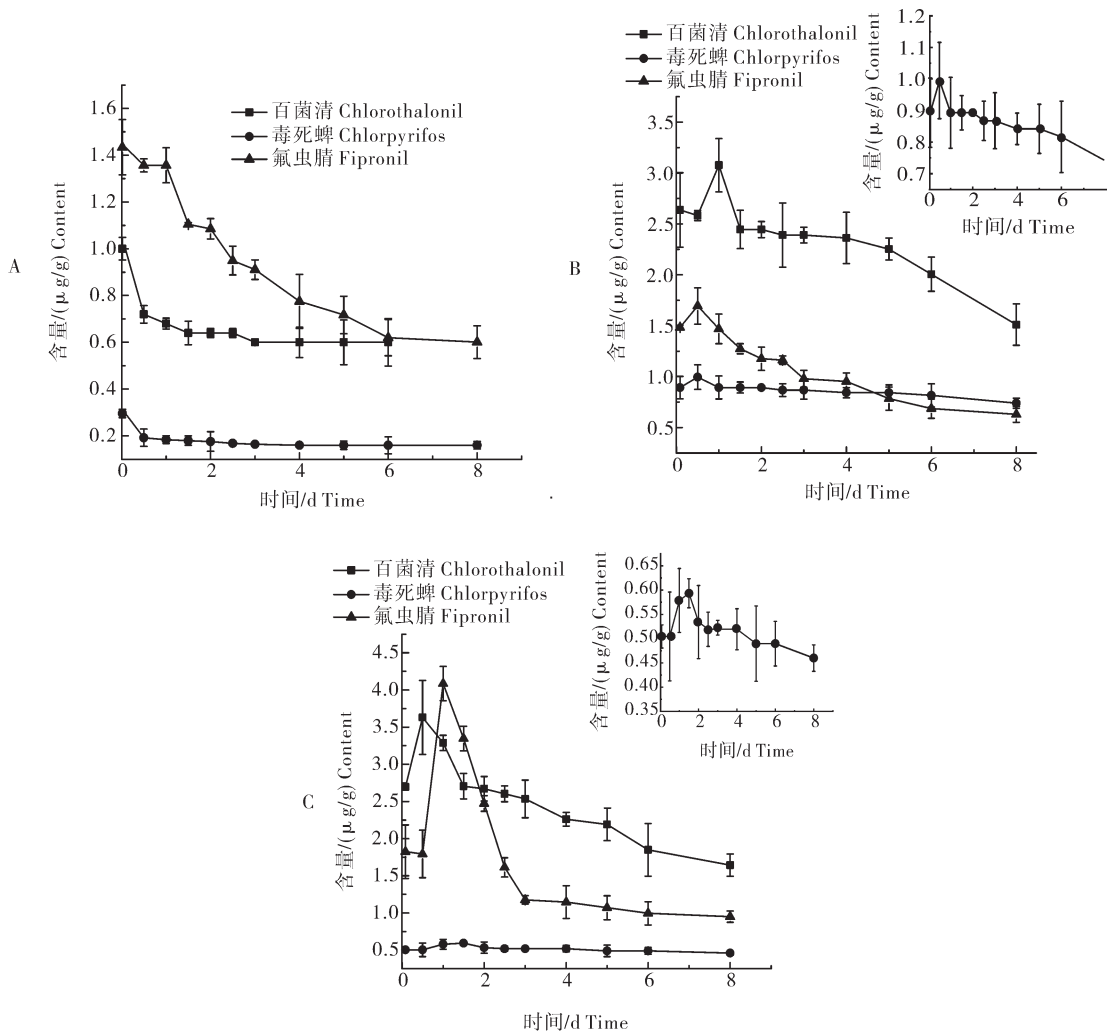


图4 活体追踪40 °C(A)、25 °C(B)和8 °C(C)下小白菜中农药随时间变化曲线

Fig.4 *in vivo* SPME tracing of pesticides in pakchoi at 40 °C (A), 25 °C (B) and 8 °C (C)

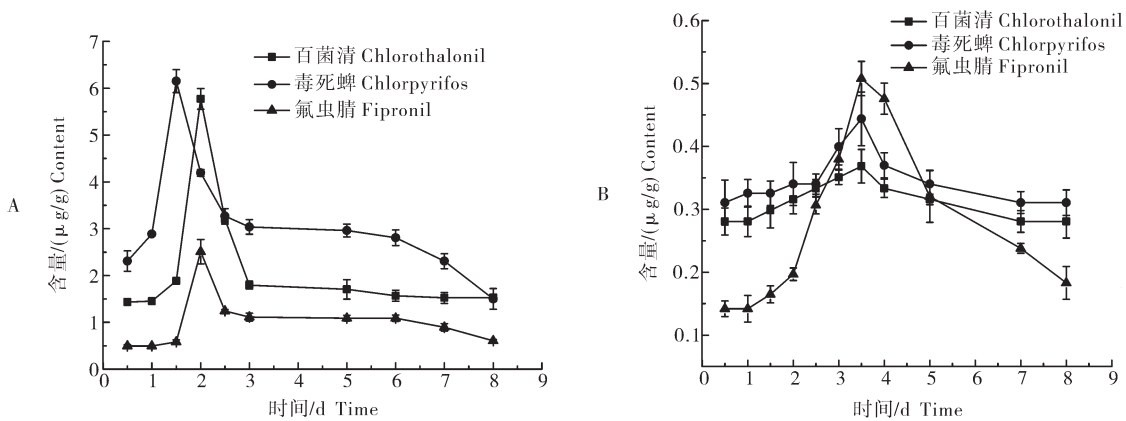


图5 活体追踪土培(A)和水培(B)方式下小白菜中农药吸收降解曲线

Fig.5 *in vivo* SPME tracing of pesticides in pakchoi by soil culturing (A) and hydroponics (B)

100.04, 5.46和13.94 μg/g。

由图6可见,百菌清和氟虫腈在不同温度下的最高含量差异很大,施药24 h后采摘的小白菜表面仍附着有一定量的百菌清,在贮藏期间会持续地被吸

收进植株内,而氟虫腈具有中度内吸作用,能不断被作物吸收并在体内传导。此外,通过非线性拟合曲线方程(R^2 为0.847 2~0.985 6)得到百菌清在4 °C和20 °C下的消解半衰期分别为3.66和3.75 d;毒死蜱

表4 2种施药方式下3种农药在小白菜中的分布

Table 4 Distribution of three pesticides in pakchoi by two application methods

 $\mu\text{g/g}$

方法 Methods	分析物 Analyte	第1天 1st day		第8天 8th day	
		茎 stem	叶 leaf	茎 stem	叶 leaf
水中添加 Aqueous solution	百菌清 Chlorothalonil	0.281±0.001a	0.057±0.003b	0.281±0.006a	0.399±0.001a
	毒死蜱 Chlorpyrifos	0.325±0.003a	0.021±0.002b	0.311±0.001a	0.247±0.003a
	氟虫腈 Fipronil	0.142±0.002a	0.007±0.004c	0.183±0.003a	0.053±0.004b
叶面喷洒 Foliage spraying	百菌清 Chlorothalonil	1.433±0.002b	4.378±0.003a	1.522±0.001b	1.578±0.002b
	毒死蜱 Chlorpyrifos	2.308±0.001a	1.063±0.001b	1.502±0.004b	0.533±0.002c
	氟虫腈 Fipronil	0.494±0.004c	1.835±0.002a	0.605±0.002c	0.912±0.005b

为4.37和18.97 d;氟虫腈为4.97和14.29 d。以上结果表明,贮藏温度对于百菌清的消解速率影响不大,

但对毒死蜱和氟虫腈具有显著影响,低温能够延缓毒死蜱和氟虫腈的消解。

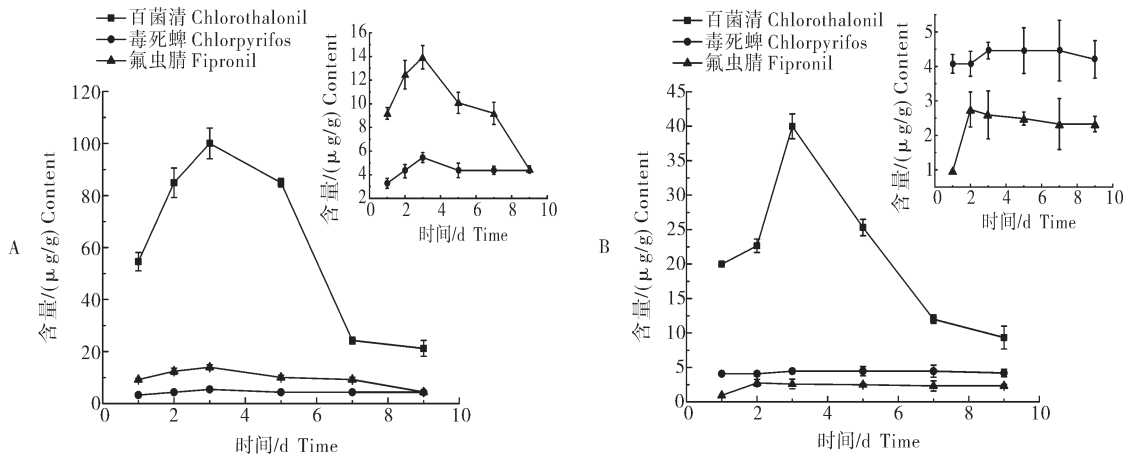


图6 原位检测 20 °C(A)和 4 °C(B)下小白菜中农药随时间的变化曲线

Fig.6 *in situ* SPME tracing of pesticides in pakchoi at 20 °C (A) and 4 °C (B)

3 讨论

本研究建立了一种快速、准确、灵敏、非破坏性的 *in vivo* SPME/GC 方法,应用该方法对不同环境影响中的小白菜中3种农药进行监测,研究不同环境因素(温度、光照、种植方式)对小白菜中3种农药(百菌清、毒死蜱和氟虫腈)环境行为的影响。

光照和温度是影响小白菜生长期农药降解的关键因素。3种农药在强烈光照条件下的消解速率远远快于室内阴凉条件下,这可能是日晒过程中农药发生了热解和光解,农药分子在直接或间接吸收光能后,分子内的C—C、C—H、C—O和C—N等键会发生断裂并形成新的转化产物。也可能是不直接吸收光的辐射能量,而是借助其它物质作为载体,通过载体将光能转移给农药分子引起分子激发,或是载体自身发生反应产生中间体,然后中间体再与农药分子发生作用^[14-16]。温度越高,3种农药在小白菜中的降解速率越快,这与其他科研人员的研究结果一

致^[17-18]。一方面,环境温度高可以增加药液中农药的挥发从而降低其浓度,施用农药前期药液会大量挥发,挥发的速度随着温度的升高加快。另一方面,高温可以加快生物体内的化学反应速率和微生物活动,从而促进农药降解^[19]。

施加农药的方式会影响小白菜对农药的吸收和降解。叶面喷洒3种农药的吸收速率比根部施药更快,且叶面喷洒3种农药最高含量均高于水中施药的,原因可能在于叶面喷洒是将农药直接喷到植株表面,小白菜可以将表面农药直接吸收到茎叶中,而水中施加的农药从培养液转运到茎部和叶面需要一定时间,且蔬菜可以释放一些物质来加速农药在水溶液中的降解^[20]。土培小白菜中3种农药的消解速率更快,可能是因为土壤中存在多种微生物能够促进农药的降解^[21]。

环境温度除了在采前影响植物中农药的消解,在采后贮藏中对农药降解也有一定影响。贮藏温度对于百菌清的消解速率影响不大,而低温能够延缓

毒死蜱和氟虫腈的消解。原因在于,一方面,百菌清在植物表面上具有良好的黏着性^[22];另一方面,较高的温度会促进植物体对农药的吸收^[23],低温能够降低酶活性和抑制微生物,从而降低农药的消解速率^[24]。3种农药相比较而言,百菌清的稳定性最差,氟虫腈在4℃条件下的稳定性最好,毒死蜱在常温和4℃条件下均比较稳定。

参考文献 References

- [1] SUN F F, YANG X D, LI Y, et al. Molecular cloning and characterisation of cytoplasmic glutamine synthetase gene BcGS1 from non-heading Chinese cabbage [J]. Journal of the science of food and agriculture, 2010, 90(5): 891-897.
- [2] TAVARES M A, PALMA I D F, MEDEIROS H C D, et al. Comparative effects of fipronil and its metabolites sulfone and desulfinyl on the isolated rat liver mitochondria [J]. Environmental toxicology and pharmacology, 2015, 40(1): 206-214.
- [3] VAN LEEUWEN T, STILLATUS V, TIRRY L. Genetic analysis and cross-resistance spectrum of a laboratory-selected chlorfenapyr resistant strain of two-spotted spider mite (Acari: Tetranychidae) [J]. Experimental & applied acarology, 2004, 32(4): 27-35.
- [4] OUYANG G F, VUCKOVIC D, PAWLISZYN J. Nondestructive sampling of living systems using in vivo solid-phase microextraction [J]. Chemical reviews, 2011, 111(4): 2784-2814.
- [5] LENDOR S, OLKOWICZ M, BOYACI E, et al. Investigation of early death-induced changes in rat brain by solid phase microextraction via untargeted high resolution mass spectrometry: In vivo versus postmortem comparative study [J]. ACS chemical neuroscience, 2020, 11(12): 1827-1840.
- [6] 向孝哲. 环境有机污染物高效固相微萃取涂层的制备及在茭白原位采样中的应用 [D]. 武汉: 华中农业大学, 2020. XIANG X Z. Preparation of efficient solid phase microextraction coating of environmental organic pollutants and its application in *in situ* sampling of water bamboo [D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2020 (in Chinese with English abstract).
- [7] OUYANG G F, OAKES K D, BRAGG L, et al. Sampling-rate calibration for rapid and nonlethal monitoring of organic contaminants in fish muscle by solid-phase microextraction [J]. Environmental science & technology, 2011, 45(18): 7792-7798.
- [8] LIU Y, HE Y, ZHANG J D, et al. Distribution, partitioning behavior, and ecological risk assessment of phthalate esters in sediment particle-pore water systems from the main stream of the Haihe River, Northern China [J/OL]. Science of the total environment, 2020, 745: 141131 [2022-05-20]. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.141131>.
- [9] OCAÑA-RIOS I, PEÑA-ALVAREZ A, ZUÑIGA-PEREZ I, et al. Trace analysis of UV filters and musks in living fish by in vivo SPME-GC-MS [J]. Analytical and bioanalytical chemistry, 2019, 411(14): 3209-3218.
- [10] WILLS G D, BASLER E. Environmental effects on absorption and translocation of 2, 4, 5-T in winged elm [J]. Weed science, 1971, 19(4): 431-434.
- [11] REDDY P V L, KIM K H. A review of photochemical approaches for the treatment of a wide range of pesticides [J]. Journal of hazardous materials, 2015, 285: 325-335.
- [12] 王娜, 李在均, 李娜娜. 黄瓜中多菌灵、啉虫脒和毒死蜱的荧光检测 [J]. 食品安全质量检测学报, 2021, 12(18): 7191-7199. WANG N, LI Z J, LI N N. Fluorescence detection of carbendazim, acetamiprid and chlorpyrifos in cucumber [J]. Journal of food safety & quality, 2021, 12(18): 7191-7199 (in Chinese with English abstract).
- [13] 徐潇颖, 梁晶晶, 赵超群, 等. 高效液相色谱-线性离子阱串联质谱法测定茶叶中的氟虫腈及其代谢产物 [J]. 分析科学学报, 2020, 36(6): 833-838. XU X Y, LIANG J J, ZHAO C Q, et al. Determination of fipronil and its metabolites in tea by high performance liquid chromatography-quadrupole linear ion trap mass spectrometry [J]. Journal of analytical science, 2020, 36(6): 833-838 (in Chinese with English abstract).
- [14] 秦丽. 吡虫啉和百菌清在设施和露地五种蔬菜上的残留行为研究 [D]. 杭州: 浙江大学, 2011. QIN L. Study on residual behavior of imidacloprid and chlorothalonil between the greenhouse and field in five kinds of vegetables [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2011 (in Chinese with English abstract).
- [15] KATAGI T. Direct photolysis mechanism of pesticides in water [J]. Journal of pesticide science, 2018, 43(2): 57-72.
- [16] DONG B Z, HU J Y. Photodegradation of the novel fungicide fluopyram in aqueous solution: kinetics, transformation products, and toxicity evolution [J]. Environmental science and pollution research, 2016, 23(19): 19096-19106.
- [17] 山国军. 日光温室西葫芦喷药后在不同温度下的残留降解规律研究 [J]. 农业科技与信息, 2020(16): 49-50. SHAN G J. Study on the residual degradation of *Cucurbita pepo* in greenhouse after spraying at different temperatures [J]. Agricultural science-technology and information, 2020(16): 49-50 (in Chinese).
- [18] 田芹, 周志强, 江树人, 等. 毒死蜱在环境水体中降解的研究 [J]. 农业环境科学学报, 2005, 24(2): 289-293. TIAN Q, ZHOU Z Q, JIANG S R, et al. Degradation of chlorpyrifos in environmental water [J]. Journal of agro-environmental science, 2005, 24(2): 289-293 (in Chinese with English abstract).
- [19] 欧旭. 高效氯氟氰菊酯在小白菜上的残留和代谢研究 [D]. 合肥: 安徽农业大学, 2021. OU X. Study on the residue and metabolism of lambda-cyhalothrin on pakchoi [D]. Hefei: Anhui Agricultural University, 2021 (in Chinese with English abstract).
- [20] SUN H W, XU J, YANG S H, et al. Plant uptake of aldicarb from contaminated soil and its enhanced degradation in the rhizosphere [J]. Chemosphere, 2004, 54(4): 569-574.
- [21] LI Y, LONG L, YAN H Q, et al. Comparison of uptake, translocation and accumulation of several neonicotinoids in komatsuna (*Brassica rapa* var. perviridis) from contaminated soils [J]. Chemosphere, 2018, 200: 603-611.
- [22] SONG S M, HUANG H L, CHEN Z J, et al. Representative commodity for six leafy vegetables based on the determination of six pesticide residues by gas chromatography [J]. Acta chromatographica, 2019, 31(1): 49-56.
- [23] 高霞, 陈辉, 谭敏, 等. 气相色谱-负化学源电离-质谱法测定蔬菜

- 中氟虫腈及其代谢物残留[J].食品科学,2021,42(14):333-338.GAO X, CHEN H, TAN M, et al. Determination of fipronil and its metabolites in vegetables by gas chromatography-negative ion chemical ionization-mass spectrometry [J]. Food science, 2021, 42(14): 333-338(in Chinese with English abstract).
- [24] 夏清华.柑橘果实中有机磷类农药残留监测及其受加工处理的影响研究[D].重庆:西南大学,2020.XIA Q H. The monitoring of organophosphorus pesticide residues in citrus and evaluation of the impact of handling and processing[D].Chongqing: Southwest University, 2020(in Chinese with English abstract).

Determination of three pesticides residue in pakchoi with *in vivo* solid-phase microextraction-gas chromatography

SUN Xin, ZHANG Dan, ZHANG Xiaofan, LI Xiujuan

*College of Food Science and Technology, Huazhong Agricultural University/
Key Laboratory of Environment Correlative Dietology, Ministry of Education/
Hubei Province Key Laboratory of Fruit & Vegetable Processing & Quality Control,
Wuhan 430070, China*

Abstract Three pesticides including chlorothalonil, chlorpyrifos and fipronil in pakchoi were sampled and determined quantitatively by sampling rate calibrated *in vivo* solid-phase microextraction-gas chromatography. The environmental behavior of pesticides including absorption, enrichment and dissipation in pakchoi were studied. The results showed that the *in vivo* detection method was accurate, sensitive, fast and convenient. Both light and temperature promoted the degradation of three pesticides in pakchoi. The application method affected the absorption of pesticides, and the absorption rate of the three pesticides by foliar spraying of pakchoi was faster. The culture method affected the degradation of pesticides, and the rate of pesticide degradation in the soil-cultured pakchoi was faster than that of the pakchoi cultured in water. Postharvest storage had an effect on the degradation of pesticides. Storage temperature had little effect on the dissipation rate of chlorothalonil, while low temperature inhibited the dissipation of chlorpyrifos and fipronil. The results showed that among the three pesticides, chlorothalonil had the worst stability, fipronil had the best stability at 4 °C, and chlorpyrifos was relatively stable at room temperature and 4 °C. It will provide an analytical method for tracking pesticides in living plants and an insight into the environmental behavior in complex biological systems. It will be helpful to better understand the characteristics of pesticide residues in pakchoi and to reduce the potential health risks in human.

Keywords *in vivo* solid-phase microextraction; gas chromatography; pakchoi; pesticide residues; environmental behavior; food safety

(责任编辑:赵琳琳)