

实验技术与方法

固相萃取-气相色谱双检测器法测定蔬菜中 26 种有机磷农药残留量

董新风,李丽敏,郭爱静,丁永宏

(石家庄市疾病预防控制中心,河北 石家庄 050011)

摘要:目的 建立一种同时测定蔬菜中有机磷农药残留量的分析方法。方法 以乙腈为提取剂,以 CARB/NH₂ 柱净化,以丙酮/乙腈混和溶剂作为净化剂洗脱。用气相色谱(GC/FPD 和 GC/NPD)测定,以标准物质保留时间定性,以外标法定量。以低限加标样品的 3 倍信噪比确定方法的检出限,以 3 个添加水平测定样品的回收率和相对标准偏差(RSD)。结果 该方法的检出限达到 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 水平;除敌敌畏以外,大多数农药的加标回收率在 75% ~ 120% 之间,RSD 均低于 10%, $r^2 > 0.9981$ 。结论 该方法简便、灵敏、快速,能够满足同时测定蔬菜中多种有机磷农药残留量的要求。

关键词:固相萃取;农药残留;气相色谱;蔬菜;有机磷农药

中图分类号:O657.71;TQ453.22 文献标识码:A 文章编号:1004-8456(2012)01-0041-04

Analysis of twenty-six organophosphate pesticides in vegetable by gas chromatography with two detectors coupled with solid phase extraction

Dong Xinfeng, Li Limin, Guo Aijing, Ding Yonghong

(Center for Disease Control and Prevention of Shijiazhuang, Shijiazhuang 050011, China)

Abstract: A new analytical method was developed to simultaneously determine organophosphate pesticide residues in vegetable. First, the solvents for extraction were selected by comparing acetonitrile with acetone/ dichloromethane, acetone/ petroleum ether, acetone/acetonitrile. The extraction efficiency with acetonitrile was the best. Second, clean-up was performed by solid phase extraction using a CARB/NH₂ cartridge. Acetone/acetonitrile had the best performance used as cleaning-up. The prepared sample was analyzed using gas chromatography (detector FPD and detector NPD). The pesticides were identified with retention time, and they were quantified based on extract of spiking standards in a blank sample. The limits of detection were evaluated on the values of the lower concentration fortified sample under the signal-to-noise ratio of 3: 1. The recoveries and relative standard deviations RSDs were checked by adding pesticide standard solution at three levels to untreated samples. The LODs were at $\mu\text{g}/\text{kg}$ level. The average recoveries of most pesticides were from 75% to 120%. The RSDs were less than 10%. These results indicated that this method is simple, rapid, and sensitive for the simultaneous determination requirements of multiple organophosphorus pesticide residues in vegetable.

Key words: Solid phase extraction (SPE); pesticide residue; gas chromatography (GC); vegetable; organophosphorus pesticides

目前各国在蔬菜中农药限量标准中要求测定的农药品种逐年增多,而现有的方法不能满足多种农药残留的快速、准确测定的要求。在分析仪器高度发展的今天,样品的前处理技术在农药残留分析中占据越来越重要的位置。目前农药多残留的检测采用加速溶剂萃取^[1-2]、振荡提取^[3]、匀浆^[4-6]等提取方式,以及分散基质固相萃取^[4-5,7]、固相萃取^[8-9]、固相微萃取^[10]、凝胶渗透色谱^[1]等净化手段,利用气相色谱^[8-9,11-13]、液相色谱^[14]、气相-质谱联用^[1,5-7,10,15]、液相-质谱联用^[3]等仪器进行检

测。本文在参考其他食品中农药残留的提取方法^[1-6]、净化方法^[1,4-10]的基础上,通过优化检测方法中的前处理过程,包括提取试剂和用量的选择、固相萃取和净化浓缩步骤的确定,仪器设备条件的优化等,提高了快速检测方法的灵敏度,形成一个能够快速、准确测定多种有机磷农药残留的检测方法,达到限量标准的要求。本文以配有火焰光度检测器(GC/FPD)和配有氮磷检测器的气相色谱仪(GC/NPD)同时测定,相互佐证,以标准物质保留时间定性,以外标法定量,实现了多残留农药的同时定量分析。

收稿日期:2011-07-11

作者简介:董新风 女 硕士生 主管检验师 研究方向为农残分析 E-mail: dx Feng2002@163.com

实验技术与方法

固相萃取-气相色谱双检测器法测定蔬菜中 26 种有机磷农药残留量

董新风,李丽敏,郭爱静,丁永宏

(石家庄市疾病预防控制中心,河北 石家庄 050011)

摘要:目的 建立一种同时测定蔬菜中有机磷农药残留量的分析方法。方法 以乙腈为提取剂,以 CARB/NH₂ 柱净化,以丙酮/乙腈混和溶剂作为净化剂洗脱。用气相色谱(GC/FPD 和 GC/NPD)测定,以标准物质保留时间定性,以外标法定量。以低限加标样品的 3 倍信噪比确定方法的检出限,以 3 个添加水平测定样品的回收率和相对标准偏差(RSD)。结果 该方法的检出限达到 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 水平;除敌敌畏以外,大多数农药的加标回收率在 75% ~ 120% 之间,RSD 均低于 10%, $r^2 > 0.9981$ 。结论 该方法简便、灵敏、快速,能够满足同时测定蔬菜中多种有机磷农药残留量的要求。

关键词:固相萃取;农药残留;气相色谱;蔬菜;有机磷农药

中图分类号:O657.71;TQ453.22 文献标识码:A 文章编号:1004-8456(2012)01-0041-04

Analysis of twenty-six organophosphate pesticides in vegetable by gas chromatography with two detectors coupled with solid phase extraction

Dong Xinfeng, Li Limin, Guo Aijing, Ding Yonghong

(Center for Disease Control and Prevention of Shijiazhuang, Shijiazhuang 050011, China)

Abstract: A new analytical method was developed to simultaneously determine organophosphate pesticide residues in vegetable. First, the solvents for extraction were selected by comparing acetonitrile with acetone/ dichloromethane, acetone/ petroleum ether, acetone/acetonitrile. The extraction efficiency with acetonitrile was the best. Second, clean-up was performed by solid phase extraction using a CARB/NH₂ cartridge. Acetone/acetonitrile had the best performance used as cleaning-up. The prepared sample was analyzed using gas chromatography (detector FPD and detector NPD). The pesticides were identified with retention time, and they were quantified based on extract of spiking standards in a blank sample. The limits of detection were evaluated on the values of the lower concentration fortified sample under the signal-to-noise ratio of 3: 1. The recoveries and relative standard deviations RSDs were checked by adding pesticide standard solution at three levels to untreated samples. The LODs were at $\mu\text{g}/\text{kg}$ level. The average recoveries of most pesticides were from 75% to 120%. The RSDs were less than 10%. These results indicated that this method is simple, rapid, and sensitive for the simultaneous determination requirements of multiple organophosphorus pesticide residues in vegetable.

Key words: Solid phase extraction (SPE); pesticide residue; gas chromatography (GC); vegetable; organophosphorus pesticides

目前各国在蔬菜中农药限量标准中要求测定的农药品种逐年增多,而现有的方法不能满足多种农药残留的快速、准确测定的要求。在分析仪器高度发展的今天,样品的前处理技术在农药残留分析中占据越来越重要的位置。目前农药多残留的检测采用加速溶剂萃取^[1-2]、振荡提取^[3]、匀浆^[4-6]等提取方式,以及分散基质固相萃取^[4-5,7]、固相萃取^[8-9]、固相微萃取^[10]、凝胶渗透色谱^[1]等净化手段,利用气相色谱^[8-9,11-13]、液相色谱^[14]、气相-质谱联用^[1,5-7,10,15]、液相-质谱联用^[3]等仪器进行检

测。本文在参考其他食品中农药残留的提取方法^[1-6]、净化方法^[1,4-10]的基础上,通过优化检测方法中的前处理过程,包括提取试剂和用量的选择、固相萃取和净化浓缩步骤的确定,仪器设备条件的优化等,提高了快速检测方法的灵敏度,形成一个能够快速、准确测定多种有机磷农药残留的检测方法,达到限量标准的要求。本文以配有火焰光度检测器(GC/FPD)和配有氮磷检测器的气相色谱仪(GC/NPD)同时测定,相互佐证,以标准物质保留时间定性,以外标法定量,实现了多残留农药的同时定量分析。

收稿日期:2011-07-11

作者简介:董新风 女 硕士生 主管检验师 研究方向为农残分析 E-mail: dxifeng2002@163.com

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

气相色谱仪 6890N, 配有火焰光度检测器 (FPD) 和氮磷检测器 (NPD), 双塔自动进样器, 双毛细管进样口, 带磷滤光片; N-EVAPTM 氮吹仪; T25 Basic 分散机; MS3 型迷你振荡器; AS5150A 超声波清洗器; 固相萃取装置。

农药标准物质: 甲胺磷、敌敌畏、乙酰甲胺磷、氧化乐果、灭线磷、久效磷、甲拌磷、乐果、乙拌磷、氯唑磷、甲基嘧啶磷、二嗪农、乙嘧硫磷、甲基对硫磷、甲基立枯磷、皮蝇硫磷、杀螟硫磷、马拉硫磷、毒死蜱、杀仆磷、丙溴磷、乙硫磷、三唑磷、哒嗪硫磷、亚胺硫磷、伏杀硫磷 (均购自农业部环境保护科研监测所)。

二氯甲烷、正己烷、石油醚及丙酮 (优级纯); 乙腈 (色谱纯); Florisil 固相萃取小柱 (天津博纳艾杰尔科技有限公司); CARB/NH₂ 柱 (杭州福裕科技服务有限公司); 无水硫酸钠 (分析纯, 于 650 °C 灼烧 2 h)。

1.2 仪器的工作条件

HP-5 毛细管柱 (60 m × 0.25 mm × 0.25 μm), 载气为高纯氮气, 纯度 ≥ 99.999%; 恒流模式, 流速为 1.0 ml/min; 燃气为氢气, 纯度 ≥ 99.999%, 流速为 75 ml/min; 助燃气为空气, 流速为 100 ml/min; 尾吹气为高纯氮气, 流速为 60 ml/min。

进样口温度 250 °C, 分流进样, 分流比 50:1, 进样 1 μl。检测器温度 250 °C。柱升温程序: 40 °C 保持 2 min; 25 °C/min 升至 100 °C, 保持 2 min; 5 °C/min 升至 150 °C, 保持 5 min; 3 °C/min 升至 200 °C, 保持 4 min; 4 °C/min 升至 290 °C, 保持 1 min。

1.3 试验方法

1.3.1 提取

精确称取 10.00 g 切碎的样品, 加入到 50 ml 离心管中, 加入 20 ml 乙腈, 高速匀浆 1 min, 加 3~4 g 氯化钠, 继续匀浆 1 min, 不加热超声 5 min。取出加入适量无水硫酸钠, 再加入 10 ml 乙腈超声提取 5 min, 离心分层。将液体层过滤到浓缩瓶中。再用 10 ml 乙腈超声萃取 1 次, 合并提取液, 40 °C 旋转蒸发浓缩至近干, 用 1.0 ml 丙酮溶解, 待过柱净化。

1.3.2 净化

用淋洗液活化 CARB/NH₂ 柱, 自然下滴。将上述 1.0 ml 丙酮溶液转移到 CARB/NH₂ 小柱上, 再用少量丙酮洗浓缩瓶同样上样, 让其自然下滴。待提取液通过小柱后, 用淋洗液分 2 次淋洗转移到 CARB/NH₂ 柱上, 洗脱液均收集到离心管中, 40 °C 氮吹至近干, 用正己烷 1 ml 荡洗离心管 2 次, 收集到定量瓶中, 定容至 0.5 ml, 进气相色谱仪测定。

1.3.3 基质加标实验

取空白样品, 按以上实验方法操作, 取样后加入农药混标溶液作为外标溶液, 对待测样品浓度加以校正。

2 结果与分析

2.1 气相色谱条件的确立

选用 FPD 和 NPD 两种检测器分别检测, 以双检测器保留时间定性。因检测器不同, 目标物出峰顺序和保留时间会有所差异, 当待测物在 2 个检测器保留时间均符合时, 得以确证。因为 FPD 检测器进样一针可以将所测农药完全分开, 所以用 FPD 检测器定量。

2.2 固相萃取柱的选择

本文建立的针对蔬菜/粮食中禁限用农药的残留检测方法检出限为 10 μg/kg 左右, 为降低基质杂峰对待测物的影响, 采用固相萃取柱进行净化。实验中分别用 CARB/NH₂ 柱, 普通滤纸, Florisil 柱进行样品净化和回收率实验。实验发现, 对于一些色素含量小的样品, Florisil 柱去除杂质的效果较好, 干扰峰较少, 但是绝大部分蔬菜尤其是叶类蔬菜色素含量都很高; CARB/NH₂ 柱去除色素的效果很好, 对仪器的损坏程度要小得多; 简单经过普通滤纸加无水硫酸钠和活性炭净化虽然脱色效果也不错, 但是样品中干扰峰多, 且回收率相对要低得多。综合考虑, 本实验选用 CARB/NH₂ 柱作为净化萃取柱。

2.3 提取溶剂的选择

一般常用丙酮、二氯甲烷、乙腈、乙酸乙酯等作为食品中有机磷农药的提取剂, 国际上常用乙腈作为有机磷农药提取剂及分配净化剂。丙酮虽无毒, 但共提取的杂质较多。二氯甲烷毒性与乙腈相当, 但二氯甲烷沸点低 (39 °C), 对实验人员和环境污染较大, 而且对甲胺磷等极性农药提取率较低。乙腈具有极性大、穿透力强的特点, 但乙腈浓缩时要求的温度较高, 有些农药回收率会偏低。在选择提取剂的实验中, 分别用乙腈、丙酮/二氯甲烷、丙酮/石油醚、丙酮/乙腈进行实验, 其中丙酮/二氯甲烷提取, 由于二氯甲烷挥发性强, 对人体及环境损坏太大, 丙酮/石油醚提取的共提杂质较多, 并且净化困难。实验表明乙腈和丙酮/乙腈的提取效果好, 本实验选用乙腈作为提取溶剂。选用丙酮/乙腈作为净化淋洗液。

2.4 方法的验证

2.4.1 标准曲线、线性范围及检出限

26 种农药的线性方程、相关系数及检出限见

表 1,以低限加标样品的测定结果按 3 倍信噪比确定检出限。

表 1 26 种农药的线性方程、相关系数以及检出限
Table 1 Regression equations, correlated coefficients(r),

LODs of 26 pesticides			
农药	线性方程	r^2	检出限($\mu\text{g}/\text{kg}$)
甲胺磷	$y = 310.68x + 5.687$	0.9988	7.14
敌敌畏	$y = 110.28x + 10.236$	0.9981	7.69
乙酰甲胺磷	$y = 298.33x + 2.654$	0.9986	12.5
氧化乐果	$y = 1121.3x - 5.364$	0.9989	20
灭线磷	$y = 1021.5x - 3.698$	0.9994	8.33
久效磷	$y = 221.36x - 5.231$	0.9998	12.5
甲拌磷	$y = 1236.5x - 3.681$	0.9991	9.09
乐果	$y = 382.56x - 11.36$	0.9988	10
乙拌磷	$y = 331.66x + 13.24$	0.9988	8.33
氯唑磷	$y = 182.88x + 8.361$	0.9990	12.5
甲基嘧啶磷	$y = 802.56x - 3.942$	0.9991	7.14
二嗪农	$y = 500.33x + 5.984$	0.9990	9.09
乙嘧硫磷	$y = 402.22x - 3.661$	0.9992	9.09
甲基对硫磷	$y = 301.54x + 2.673$	0.9991	6.67
甲基立枯磷	$y = 802.61x - 12.37$	0.9989	8.33
皮蝇硫磷	$y = 736.21x + 12.01$	0.9991	9.09
杀螟硫磷	$y = 294.15x - 2.364$	0.9996	9.09
马拉硫磷	$y = 257.34x + 10.34$	0.9991	10
毒死蜱	$y = 906.40x - 7.962$	0.9995	8.33
杀仆磷	$y = 1021.3x + 1.582$	0.9989	10
丙溴磷	$y = 321.68x - 9.354$	0.9996	10
乙硫磷	$y = 284.36x + 18.35$	0.9989	7.14
三唑磷	$y = 309.44x - 12.81$	0.9992	10
哒嗪硫磷	$y = 507.69x + 10.589$	0.9991	8.33
亚胺硫磷	$y = 801.99x + 5.684$	0.9984	20
伏杀硫磷	$y = 402.57x + 8.107$	0.9991	10

2.4.2 回收率和精密度

20.0 g 空白蔬菜(样品中农残含量低于检出限)中加 20 ml 乙腈,分别添加 3 个水平农药混和标准溶液,每个添加水平做 3 次平行测定,振荡混匀,放置 1 h。按照前述方法处理和测定,同时做空白实验,以消除样品基质的影响。回收率和相对标准偏差(RSD)列于表 2,FPD 检测器检测空白、样品及标准色谱图见图 1,NPD 检测器检测标准色谱图见图 2。

3 结论

本研究建立了一种气相色谱分析蔬菜中多种有机磷农药残留的方法,方法符合分析农药残留的要求,检出限能满足相关的限量要求(参考食品中农药残留的限量标准)。本方法选用乙腈作为提取剂,丙酮/乙腈作为净化淋洗液,减少了由于低沸点有机溶剂对环境及人体的危害。该方法是一种实用性强、快速、简便的检测手段,具有灵敏度高、分离效果好、重复性好的特点,能适用于目前蔬菜中多残留检测的要求。

对于一些极性强的农药,本方法的回收率较低,

方法有待进一步改进,以扩大方法的适用范围。

表 2 26 种农药的回收率实验结果

Table 2 Recoveries and repeatabilities of 26 pesticide residues ($n = 3, \%$)

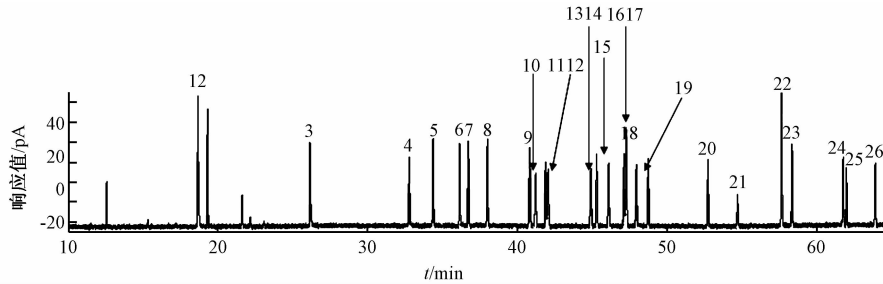
农药	0.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$		1.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$		2.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$	
	回收率	RSD	回收率	RSD	回收率	RSD
甲胺磷	78.6	4.9	79.3	4.2	80.6	1.9
敌敌畏	71.9	5.5	74.5	2.3	73.9	2.6
乙酰甲胺磷	80.1	3.9	83.6	4.2	86.2	2.3
氧化乐果 ^a	75.1	8.6	82.1	6.1	89.1	4.1
灭线磷	81.2	5.9	86.3	4.6	88.2	4.5
久效磷	77.5	3.9	80.1	2.3	86.3	2.1
甲拌磷	80.0	2.6	86.1	2.7	90.6	3.4
乐果	79.5	2.9	82.3	3.5	90.2	3.1
乙拌磷	81.3	3.1	89.1	2.5	91.9	1.7
氯唑磷	77.9	5.5	80.3	4.5	85.2	2.6
甲基嘧啶磷	82.1	5.3	83.6	4.1	86.1	2.1
二嗪农	80.1	4.1	85.3	5.0	87.2	4.1
乙嘧硫磷	79.9	3.6	90.1	2.1	88.3	2.8
甲基对硫磷	83.6	2.9	89.3	3.0	90.8	3.1
甲基立枯磷	80.6	1.9	91.2	3.0	115.6	3.0
皮蝇硫磷	79.6	5.3	87.2	4.1	105.3	2.5
杀螟硫磷	79.1	2.1	80.2	3.4	109.2	1.6
马拉硫磷	78.8	3.7	79.7	2.7	88.2	1.8
毒死蜱	80.3	1.7	80.2	2.8	86.9	2.8
杀仆磷	77.9	3.9	81.2	2.1	119.6	2.4
丙溴磷	78.2	4.1	79.6	2.9	93.1	3.1
乙硫磷	81.2	2.9	85.3	3.5	87.8	6.1
三唑磷	79.0	2.7	96.2	3.1	79.9	4.2
哒嗪硫磷	79.9	3.1	91.2	3.7	86.3	2.5
亚胺硫磷 ^a	75.6	6.1	84.1	5.0	88.9	3.8
伏杀硫磷	80.1	4.9	102.9	4.1	84.5	2.9

注:a 添加水平为 0.8、1.6、3.2 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 。

参考文献

- [1] 中国国家标准局. GB/T 19649—2006 粮谷中 475 种农药及相关化学品残留量的测定 气相色谱-质谱法[S]. 北京:中国标准出版社,2006.
- [2] 刘忠. 加速溶剂萃取-气相色谱测定茶叶中多种农药残留[J]. 中国食品卫生杂志,2010,22(6):516-518.
- [3] 徐远金,李永库. 液相色谱-电喷雾质谱联用法测定蔬菜中 7 种有机磷农药残留量[J]. 分析测试学报,2006,25(4):36-40.
- [4] 中华人民共和国农业部. NY/T 761—2004 蔬菜和水果中有机磷、有机氯、拟除虫菊酯和氨基甲酸酯类农药多残留检测方法[S]. 北京:中国标准出版社,2004.
- [5] 董静,潘玉香,朱莉萍,等. 果蔬中 54 种农药残留的 QuEChERS/GC-MS 快速分析[J]. 分析测试学报,2008,27(1):66-69.
- [6] 中国国家标准局. GB/T 19648—2006 水果和蔬菜中 500 种农药及相关化学品残留量的测定 气相色谱-质谱法[S]. 北京:中国标准出版社,2006.
- [7] 黄宝勇,潘灿平,张微,等. 应用分析保护剂补偿基质效应与气相色谱-质谱快速检测果蔬中农药多残留[J]. 分析测试学报,2006,25(3):11-16.
- [8] 楼正云,陈宗懋,罗逢健,等. 固相萃取-气相色谱法测定茶叶中残留的 92 种农药[J]. 色谱,2008,26(5):568-576.

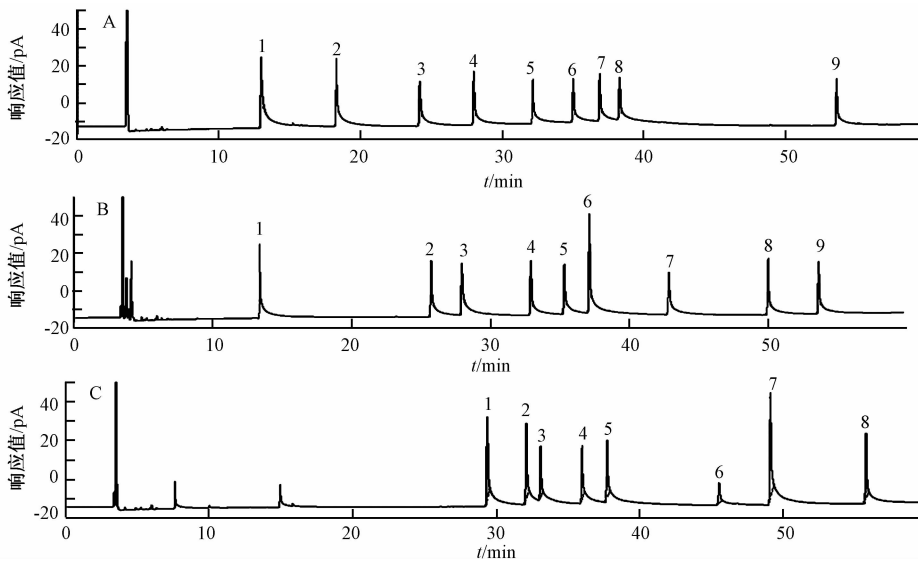
- [9] 汤富彬,陈宗懋,罗逢健,等. 固相萃取-气相色谱法检测茶叶中的有机磷农药残留量[J]. 分析试验室,2007,26(2):43-47.
- [10] 帅琴,杨薇,郑岳君,等. 固相微萃取与气相色谱-质谱联用测定有机磷杀虫剂的残留量[J]. 色谱,2003,21(3):273-276.
- [11] 应兴华,徐霞,胡敏骏,等. 毛细管气相色谱法测定韭菜中 13 种有机磷农药残留的研究[J]. 分析测试学报,2009,28(10):1185-1188.
- [12] 潘守奇,孙军,董静,等. 气相色谱法同时测定蔬菜中 24 种有机磷农药残留[J]. 分析试验室,2010,29(1):115-118.
- [13] 王迪,刘潇威,刘岩,等. 蔬菜、水果中 12 种限量有机磷农药残留量测定方法[J]. 分析试验室,2010,29(7):37-41.
- [14] 孙福生,董杰. 基质固相分散-反相液相色谱法测定蔬菜中二甲戊乐灵农药残留[J]. 分析试验室,2010,29(2):69-72.
- [15] 刘芄岩,刘庆学,马育松,等. 大米中多种残留农药的固相萃取-气相色谱-质谱分析[J]. 色谱,2006,24(3):228-234.



- 1. 甲胺磷 2. 敌敌畏 3. 乙酰甲胺磷 4. 氧化乐果 5. 灭线磷 6. 久效磷 7. 甲拌磷 8. 乐果 9. 乙拌磷 10. 二嗪农 11. 氯唑磷 12. 乙噻硫磷
- 13. 甲基嘧啶磷 14. 甲基对硫磷 15. 甲基立枯磷 16. 皮蝇硫磷 17. 杀螟硫磷 18. 马拉硫磷 19. 毒死蜱 20. 杀扑磷 21. 丙溴磷
- 22. 乙硫磷 23. 三唑磷 24. 哒嗪硫磷 25. 亚胺硫磷 26. 伏杀硫磷, 浓度均为 4.00 μg/ml

图 1 FPD 检测器检测标准色谱图

Figure 1 The chromatograms of standards by FPD detector



- A 1. 甲胺磷 2. 乙酰甲胺磷 3. 氧化乐果 4. 甲拌磷 5. 乙拌磷 6. 甲基对硫磷 7. 杀螟硫磷 8. 毒死蜱 9. 哒嗪硫磷
- B 1. 敌敌畏 2. 灭线磷 3. 久效磷 4. 氯唑磷 5. 甲基嘧啶磷 6. 甲基立枯磷 7. 杀扑磷 8. 三唑磷 9. 亚胺硫磷
- C 1. 乐果 2. 乙噻硫磷 3. 二嗪农 4. 皮蝇硫磷 5. 马拉硫磷 6. 丙溴磷 7. 乙硫磷 8. 伏杀硫磷, 浓度均为 6.00 μg/ml

图 2 NPD 检测器检测标准色谱图

Figure 2 The chromatograms of standards by NPD detector