

气相色谱法测定水果中多种有机磷农药残留分析

李恒, 毛林夏*, 李昱贤, 程勇航 (红河出入境检验检疫局检验检疫综合技术中心, 云南个旧 661000)

摘要 [目的]建立了水果样品前处理,毛细管柱气相色谱法(GC-FPD)测定水果中6种有机磷农药含量的快速检测方法。[方法]以6种有机磷农药为检测对象,通过超声波系统辅助提取水果中农药残留,GC-FPD测定水果中6种有机磷农药的含量。[结果]在0.025~0.500 μg/mL浓度范围内,农药残留浓度和峰面积有很好的相关性,相关系数 $r > 0.995$,回收率为71.2%~104.5%,精密度(RSD)为1.66%~5.23%,方法检出限低于国家标准,适合大批量样品检测,能够大幅缩短样品前处理时间,提高检测效率。[结论]该方法样品前处理过程简单、处理速度快,对欲测定农残组分的选择性和回收率均能够达到痕量分析要求,可以复制推广至水果中其他有机磷农药的残留检测。

关键词 气相色谱法;有机磷农药;超声波;残留

中图分类号 S481+.8 **文献标识码** A

文章编号 0517-6611(2019)03-0193-03

doi: 10.3969/j.issn.0517-6611.2019.03.060



开放科学(资源服务)标识码(OSID):

Determination of Organophosphorus Pesticide Residues in Fruits by Gas Chromatography

LI Heng, MAO Lin-xia, LI Yu-xian et al (Honghe Entry Exit Inspection and Quarantine Bureau Comprehensive Inspection and Quarantine Center, Gejiu, Yunnan 661000)

Abstract [Objective] A rapid method for the determination of six organophosphorus pesticides in fruits by capillary column gas chromatography (GC-FPD) was established. [Method] Six organophosphorus pesticides were detected. The pesticide residues in fruits were extracted by ultrasonic system. The contents of six organophosphorus pesticides in fruits were determined by capillary column gas chromatography (GC-FPD). [Result] Within the concentration range of 0.025-0.500 μg/mL, the pesticide residue concentration and peak area had a good correlation, the correlation coefficient $r > 0.995$, the recovery rate was 71.2%-104.5%, and the precision (RSD) was 1.66%-5.23%. The detection limit of the method was lower than the national standard. It was suitable for mass sample detection. It could greatly shorten the sample pretreatment time and improve the detection efficiency. [Conclusion] The sample pretreatment process of this method is simple, the processing speed is fast, the selectivity and recovery rate for the determination of pesticide residues can meet the requirements of trace analysis, and can be replicated and extended to the detection of other organophosphorus pesticide residues in fruits.

Key words Gas chromatography; Organophosphorus pesticides; Ultrasonic; Residues

有机磷农药是指含磷元素的有机化合物农药,是一类广谱、高效的化学杀虫剂^[1],主要用于防治植物病、虫、草害,所以其在农业生产中被广泛使用,导致农作物产品中发生不同程度的残留。有机磷农药对人、畜的毒性较大,在农业生产中,如果不按规定的用药量、次数、方法或安全间隔期施药,就会引起农药超标或农药中毒,危害人类健康。世界各国都对食品中农药残留最大限量^[2]进行了规定。现代农药残留分析方法通常包括样品前处理和测定两部分^[3],样品前处理是核心。农药残留的试样前处理过程分为提取、浓缩、净化等关键步骤^[4]。高效快速的提取方法是农药残留分析的核心,它决定着分析的准确性和重现性,样品前处理方法的选择直接影响检测的效率和最终分析结果,所以大力开展农药残留量检测技术以及相关的前处理技术的研究,发展简单、快速、有效的前处理方法是必要的,对于保护人民群众舌尖上的安全具有重要意义。目前,有机磷的检测主要有气相色谱法(GC)^[5-7]、气相色谱质谱法(GC-MS)^[8-9]和气相色谱-质谱-质谱法(GC-MS/MS)^[10]等。GC-MS和GC-MS/MS灵敏度较高,但是价格昂贵,运行成本高。气相色谱法的主要特点是选择性高、分离效率高、灵敏度高、分析速度快^[11],被广泛应用于食品安全中有机磷农药残留的检测。笔者通过超声波系统辅助提取水果中农药残留,毛细管柱气

相色谱法(GC-FPD)测定水果中6种有机磷农药含量,建立水果样品前处理检测的快速方法。

1 材料与方法

1.1 主要仪器 气相色谱仪(Agilent 7890A, FPD检测器, 7683B自动进样器, DB-17色谱柱); GM200盘式粉碎磨; 电子天平; 旋转蒸发仪; 涡旋混合器; 超声波清洗机(型号鼎泰恒盛DTC-27J); 所有用到的计量器具均检定合格。

1.2 主要试剂 敌敌畏、乐果、甲基对硫磷、毒死蜱、马拉硫磷、杀扑磷标准储备液(均为100 μg/mL,农业部环境保护科研监测所)。乙腈、丙酮、甲醇为色谱纯; 氯化钠为分析纯; 试验用水为GB/T 6682规定的I级水。

1.3 混合标准工作溶液的配制 分别将装有敌敌畏、乐果、甲基对硫磷、毒死蜱、马拉硫磷、杀扑磷的标准品(100 μg/mL)的安瓿瓶从冰箱中(2℃)取出,在室温下放置15 min后打开,分别将安瓿瓶中1 mL标准品全部转入10 mL容量瓶中,用丙酮清洗安瓿瓶3次,定容至刻度,即得10 μg/mL的混合标准储备溶液,采用逐级稀释法将10 μg/mL混合标准储备溶液配制成浓度分别为0.025、0.050、0.100、0.200、0.300、0.400、0.500 μg/mL的混合标准溶液。

1.4 方法

1.4.1 试验原理 试样中有机磷类农药经乙腈提取,提取溶液经过滤、浓缩后,用丙酮定容,注入气相色谱仪,农药组分经色谱柱分离,用火焰光度检测器(FPD)检测。用色谱柱的保留时间定性,外标法定量^[12]。

作者简介 李恒(1985—),男,云南镇雄人,助理工程师,从事农产品中农药残留检测及分析工作。*通信作者,助理工程师,从事食品检测研究。

收稿日期 2018-11-27

1.4.2 试验步骤。将水果样品切碎,使用盘式粉碎磨制成匀浆。准确称取 10.0 g 经过匀浆制备好的试样于带塞塑料瓶中,加入乙腈 25 mL,加入 2 g 氯化钠,置于超声波恒温清洗机中,将水温调至 20 ℃ 后超声提取 10 min 后静置,使乙腈和水相分层。吸取上层提取液于茄形瓶中,在 45 ℃ 水浴减压旋转蒸发仪上蒸馏至近干,加入 2.0 mL 丙酮后在涡旋混匀器上充分清洗混匀后转移至自动进样器样品瓶中,上机测试。

1.4.3 提取条件的选择。有机磷农药在乙腈中有良好的溶解性,在超声波加速反应系统辅助下提取残留农药,减小了样品和提取液与容器接触的面积,农药残留损失小。在超声波辅助提取过程中,超声波产生的冲击波对样品直接反复高频冲击,能破坏样品和农药的表面吸附,且超声波产生的冲击力能起到一定的搅拌作用,使样品表面能不断与新鲜的溶剂接触,加速农药在提取液中的溶解,同时使用一定的温度,更是加快了样品中残留农药的扩散速度。根据样品的性质、提取效果、塑料瓶体积、提取时效和检测成本等方面因素综合考虑,最终确定用 25 mL 体积乙腈提取液,于 20 ℃ 保持 10 min 进行农药残留提取。该提取方法实际使用效果良好,大大缩短了水果中农残提取的时间,加快了分析的速度。

1.4.4 样品浓缩过程条件的控制。在做回收率试验时发现,通过旋转蒸发法对农残提取液进行浓缩过程中,如果水浴温度过高和浓缩至干后定容都会使大多数农药的回收率明显偏低,这可能是温度过高引起有机磷农药的分解,溶剂挥干后使有机磷分解或蒸干的缘故,所以在试验过程中,水浴温度不宜过高,控制在 45 ℃,提取液浓缩至近干即可。

1.4.5 色谱分析条件。改变色谱柱、程序升温条件及载气流速、氢气与空气比例,考察待测农药色谱分离情况及信号强度。色谱柱、程序升温、载气流速和氢气与空气比例不同,待测农药的分离情况及信号强度也不同。根据在最短时间获得最佳分离效果的原则,得到如下色谱分析条件:气相色谱柱 DB-17 (30 m×0.25 mm×0.25 μm),载气为氮气 (99.999%),燃烧气体为高纯氢气和空气 (99.999%),氢气与

空气比例为 75:100;流速为 4 mL/min,进样方式不分流进样;进样口温度 230 ℃,FPD 检测器温度 250 ℃,柱温由 150 ℃ (保持 2 min) 升至 250 ℃ (8 ℃/min),保持 6 min,进样量 1 μL。

2 结果与分析

2.1 系统适应性试验 按照“1.4.5”色谱分析条件,对敌敌畏、乐果、甲基对硫磷、毒死蜱、马拉硫磷、杀扑磷 6 种有机磷农药残留混合标准溶液进行上机测试,待测农药分离情况见图 1。从图 1 可以看出,在“1.4.5”条件下,混合标准品色谱图中敌敌畏、乐果、甲基对硫磷、毒死蜱、马拉硫磷、杀扑磷 6 种有机磷农药残留混合标准溶液的保留时间分别为 1.866、8.490、9.641、10.155、10.399、12.829 min,其色谱峰与相邻色谱峰分离度良好 (与相邻峰的分度均大于 1.5),符合气相色谱法定量分析的要求。

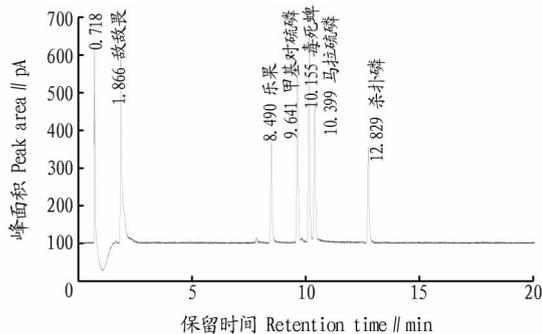


图 1 农残混合标准品色谱图

Fig. 1 Mixed standard spectrum of pesticide residues

2.2 线性范围、相关系数和检出限 准确配制 0.025~0.500 μg/mL 不同浓度的各种有机磷标准品工作溶液系列,按照“1.4”中方法和条件进行测定,以峰面积对浓度做线性回归分析,绘制标准曲线,得到待测农药的线性方程及相关系数,检出限按信噪比 3:1 计算,结果见表 1。从表 1 可以看出,敌敌畏、乐果、甲基对硫磷、毒死蜱、马拉硫磷、杀扑磷 6 种有机磷农药在 0.025~0.500 μg/mL 线性关系良好,说明峰面积和浓度之间有很好的相关性,能够达到实验室快速检测的要求,满足进出口水果农药残留检测分析的要求。

表 1 6 种农药标样的保留时间、线性范围、线性方程、相关系数和检出限

Table 1 Retention time, linear range, linear equation, correlation coefficient and detection limit of 6 pesticides

农药 Pesticides	保留时间 Retention time min	线性范围 Linear range μg/mL	线性方程 Linear equation	相关系数(r) Correlation coefficient	检出限 Detection limit//μg/mL
敌敌畏 DDVP	1.866	0.025~0.500	$Y = 6\ 253.522\ 72X + 39.011\ 04$	0.999 46	0.007
乐果 Dimethoate	8.490	0.025~0.500	$Y = 3\ 627.202\ 27X - 22.123\ 29$	0.997 68	0.011
甲基对硫磷 Parathion-methyl	9.641	0.025~0.500	$Y = 6\ 231.446\ 98X - 80.940\ 28$	0.998 81	0.007
毒死蜱 Chlorpyrifos	10.155	0.025~0.500	$Y = 7\ 789.685\ 26X - 20.358\ 36$	0.999 58	0.006
马拉硫磷 Malathion	10.399	0.025~0.500	$Y = 5\ 054.041\ 03X - 30.490\ 60$	0.999 16	0.008
杀扑磷 Methidathion	12.829	0.025~0.500	$Y = 3\ 276.225\ 07X - 9.994\ 15$	0.998 03	0.012

2.3 方法的加标回收率和精密度试验 为了考察该方法的回收率和精密度,以桔子样品为背景分别添加 3 个水平的混合标准品溶液,按照“1.4.5”方法进行提取浓缩测定,每个添

加水平做 7 次平行试验,计算各待测组分的回收率和精密度 (RSD)。结果表明 (表 2),6 种有机磷类农药的加标回收率为 71.2%~104.5%,精密度 (RSD) 为 1.66%~5.23%,回收率

和精密度均符合痕量分析的要求,能够满足实验室对进出口水果有机磷农残的检测需求。

2.4 水果样品检测 应用该试验所建立的处理方法和条件,对实验室常检样品葡萄、石榴、苹果、梨和桔子中 6 种有机磷进行检测,结果显示,葡萄、苹果和梨中毒死蜱有检出,毒死蜱检测结果均在食品中农药最大残留限量标准允许范围,其他 5 种农药残留无检出,石榴和桔子中均无这 6 种有机磷农药残留检出。

表 2 方法的加标回收率和精密度

Table 2 Calibration recovery and precision of the method

农药 Pesticides	添加水平 Adding level mg/kg	平均测定值 Average measured value//mg/kg	平均回收率 Average recovery rate//%	RSD %
敌敌畏	0.05	0.040 7	81.4	2.94
DDVP	0.10	0.105 0	105.0	2.23
	0.20	0.198 0	99.0	2.56
乐果	0.05	0.035 6	71.2	3.45
Dimethoate	0.10	0.081 0	81.0	2.43
	0.20	0.209 0	104.5	2.35
甲基对硫磷	0.05	0.041 5	83.0	2.38
Parathion-methyl	0.10	0.090 6	90.6	3.07
	0.20	0.210 0	105.0	1.66
毒死蜱	0.05	0.043 6	87.2	3.45
Chlorpyrifos	0.10	0.095 1	95.1	2.83
	0.20	0.202 0	101.0	2.94
马拉硫磷	0.05	0.039 5	79.0	5.23
Malathion	0.10	0.088 2	88.2	4.21
	0.20	0.203 0	101.5	2.18
杀扑磷	0.05	0.036 6	73.2	4.32
Methidathion	0.10	0.084 3	84.3	2.69
	0.20	0.216 0	108.0	2.89

(上接第 192 页)

3 结论

相对于薰衣草精油的传统气相和气质分析方法,红外光谱结合现代计量学方法能快速、实时和准确地测定精油中主要成分的百分比含量,该研究先以 iPLS 方法对近红外全波长吸光度进行筛选,选择出所有与测定指标相关性高的近红外波段作为 BP 神经网络模型的输入节点值,对 BP 神经网络参数优化后,建立新疆薰衣草精油中芳樟醇和乙酸芳樟酯的 iPLS-BP 神经网络快速近红外定量分析模型。结果表明,采用 iPLS-BP 神经网络建立定量模型的测定系数分析均大于 0.91,预测结果与 GC-MS 分析的相对误差小于 3%。定量分析模型能够很好地快速测定薰衣草精油中乙酸芳樟酯、芳樟醇含量,具有良好的预测能力,可为新疆薰衣草精油主要成分的快速定量分析提供一种新的有效方法。

参考文献

[1] CAVANAGH H M A, WILKINSON J M. Biological activities of lavender essential oil [J]. *Phytother Res*, 2002, 16(4): 301-308.
 [2] 徐洁华,文首文. 薰衣草挥发性有机物及其药理功效研究进展[J]. 时珍国医国药, 2010, 21(4): 979-980, 983.

3 结论

该研究通过超声波系统辅助提取水果中农药残留,毛细管柱气相色谱法(GC-FPD)测定水果中 6 种有机磷农药含量。此方法在水果样品浸渍提取的同时,辅以超声波提取,在合适的温度下完成样品的前处理工序,操作简单,提取效果好,快速节能、节省样品前处理的溶剂,污染小,可同时处理多组样品,省时高效,显著提高了样品前处理效率,进一步提高了实验室检测工作效率,适合进出口水果中有机磷农残的快速检测工作,能够更好地为检验检疫执法提供技术支持。

参考文献

[1] 吴海燕,陈建军. 蔬菜中多种有机磷农药残留气相色谱分析法[J]. 食品与机械, 2010, 26(4): 76-77, 83.
 [2] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会, 中华人民共和国农业部, 国家食品药品监督管理局. 食品中农药最大残留限量: GB 2763—2016[S]. 北京: 中国标准出版社, 2017.
 [3] 唐波, 张金娥, 齐力汇, 等. 气相色谱法测定农药残留量新进展[J]. 山东师范大学学报(自然科学版), 2002, 17(4): 35-39.
 [4] 张福金, 刘建平, 冯小慧, 等. 气相色谱法检测蔬菜和水果多组分农药残留中若干问题的研究[J]. 内蒙古农业科技, 2006(3): 31-32.
 [5] 陆小磊, 吴慧明, 金绍强, 等. 毒死蜱在 4 种作物中残留量的气相色谱分析方法[J]. 浙江农业科学, 2009(1): 168-172.
 [6] 陆勋元, 蒋永祥. 气相色谱法同时检测和分析蔬菜中毒死蜱、氯氰菊酯和氰戊菊酯的残留量[J]. 理化检验(化学分册), 2006, 42(9): 737-739.
 [7] 喻龙, 李光义, 邓晓, 等. 蔬菜中残留毒死蜱的检测方法[J]. 中国农学通报, 2007, 23(12): 338-340.
 [8] 汪军. GC-MS 定性定量分析出口西兰花样品中毒死蜱的农药残留量[J]. 现代农药, 2002(1): 23-24.
 [9] 徐颖洁. 气相色谱-质谱法测定农药中 14 种有机氯·有机磷成分[J]. 安徽农业科学, 2014, 42(17): 5470-5471, 5646.
 [10] 凌云, 王茵, 雍炜, 等. 气相色谱-质谱/质谱法检测蔬菜中的毒死蜱及其代谢物[J]. 色谱, 2009, 27(1): 78-81.
 [11] 于世林, 杜振霞. 化验员读本: 下册(仪器分析)[M]. 北京: 化学工业出版社, 2004.
 [12] 中华人民共和国农业部. 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的测定: NY/T 761—2008[S]. 北京: 中国农业出版社, 2008.

[3] 国家卫生和计划生育委员会. 食品添加剂 薰衣草油: GB 1886. 38—2015[S]. 北京: 中国标准出版社, 2016.
 [4] 王菊香, 邢志娜, 李伟, 等. BP 神经网络法结合红外光谱快速测定在用润滑油胺类抗氧化剂含量[J]. 计算机与应用化学, 2016, 33(2): 197-199.
 [5] 韩晓, 王菊香, 刘洁. 基于 BP-神经网络的航空煤油总酸值近红外光谱快速检测[J]. 分析科学学报, 2011, 27(6): 751-754.
 [6] 李智, 王圣毫, 郑维平, 等. 基于傅立叶变换的人工神经网络近红外光谱定量分析法[J]. 分析测试学报, 2012, 31(3): 343-346.
 [7] 王书涛, 陈东营, 魏蒙, 等. 荧光光谱法和 PSO-BP 神经网络在山梨酸钾浓度检测中的应用[J]. 中国激光, 2015, 42(5): 304-310.
 [8] 邹小波, 朱曾, 赵杰文. 基于间隔偏最小二乘法的农产品近红外光谱谱区选择方法[J]. 现代科学仪器, 2007(1): 86-88.
 [9] 迟亮, 张贺龙, 车英, 等. 基于 iPLS 的玉米近红外光谱数据处理方法研究[J]. 长春理工大学学报(自然科学版), 2011, 34(2): 117-119.
 [10] 李强, 杨天邦, 涂公平. GA-BP 神经网络模型应用于岩芯扫描仪测定海洋沉积物中多种组分的半定量分析[J]. 分析仪器, 2018(1): 75-79.
 [11] 曹家兴, 陆建平. 遗传算法-贝叶斯正则化 BP 神经网络拟合滴定糖蜜中有机酸[J]. 分析化学, 2011, 39(5): 743-747.
 [12] 徐立鹏, 葛良全, 谷懿, 等. 基于 PCA-BP 神经网络的 EDXRF 分析测定地质样品中铁、钛元素含量的应用研究[J]. 光谱学与光谱分析, 2013, 33(5): 1392-1396.
 [13] 杰尔·沃克曼, 洛伊斯·文依. 近红外光谱解析实用指南[M]. 褚小立, 许育鹏, 田高友, 译. 北京: 化学工业出版社, 2009.