

## 反吹-气相色谱法检测蔬菜中的有机磷农药残留

李 亮\* , 吴春梅 , 陈健航 , 张少丰 , 叶瑜霏

( 东莞市农产品质量安全监督检测所 , 广东 东莞 523086 )

**摘要** : 采用反吹技术改进了气相色谱检测大批量蔬菜样品中有机磷农药残留的方法。在样品中加入乙腈、氯化钠混合溶液振荡,离心分层,得到乙腈提取液。取部分提取液浓缩、定容,用配备火焰光度检测器及微流控装置的气相色谱仪进行有机磷农药检测。16种有机磷农药在0.040~3.20 mg/L内具有良好的线性关系( $r > 0.9996$ )。回收率为75.2%~111.5% 相对标准偏差为2.8%~10.4% ,检出限为0.003~0.01 mg/kg。通过反吹可以有效降低基质效应影响,缩短每个样品的运行时间,减少停机维护和材料消耗,节约38%的检测时间。

**关键词** : 气相色谱 ; 反吹技术 ; 基质效应 ; 农药残留

中图分类号 : O658      文献标识码 : A      文章编号 : 1000-8713(2010)07-0724-05

## Determination of organophosphorus pesticide residues in vegetables by gas chromatography using back-flush technique

LI Liang\* , WU Chunmei , CHEN Jianhang , ZHANG Shaofeng , YE Yufei

( *Dongguan Supervision and Test Institution of Agricultural Product Quality and Safety , Dongguan 523086 , China* )

**Abstract** : The back-flush technique was used in the determination of organophosphorus pesticide residues in vegetables by gas chromatography. The pesticide residues were extracted with acetonitrile and sodium chloride under mechanical shaking , and separated by centrifuging and partitioning. The extract was analyzed by gas chromatograph equipped with a flame photometric detector and a micro fluidic device with back-flush function. The results showed that the 16 organophosphorus pesticides have good linearity within the concentration range of 0.040 – 3.20 mg/L. The recoveries varied from 75.2% to 111.5% , with the relative standard deviations ( RSDs ) in the range of 2.8% – 10.4%. The detection limits of these target compounds were from 0.003 to 0.01 mg/kg. The application of back-flush technique in this method significantly reduced the cycle time and matrix effect and improved the analysis efficiency.

**Key words** : gas chromatography ( GC ) ; back-flush technique ; matrix effect ; pesticide residues

在农药残留检测中,以乙腈作为提取溶剂,由于可提取的农药范围广,提取效率高,回收率稳定,可实现多残留检测而得到广泛应用。已有多套标准方法采用乙腈作为提取溶剂<sup>[1-5]</sup>。在我国,有机磷杀虫剂销量占有所有农药销售量的70%以上<sup>[6]</sup>,所以有机磷类农药残留是蔬菜农药残留监测的重点。以乙腈提取蔬菜中的残留农药,提取液中含有大量色素及其他物质,浓缩后可以通过固相萃取<sup>[7-9]</sup>、分散固相萃取<sup>[10]</sup>、凝胶净化<sup>[11]</sup>等手段去除部分杂质和基

质的影响,但需要耗费大量时间、固相萃取材料和有机溶剂等。如果提取液浓缩后不经净化直接上样分析,则受基质的影响严重,影响定量的准确性,加速色谱柱等材料的损耗和增加仪器维护的次数,影响检测速度和样品通量。

本工作利用安捷伦气相色谱仪及其反吹微流控装置,建立了一套能有效减小基质累积影响的检测方法,简化了前处理步骤,减少材料损耗和停机维护次数,节省时间和人力,适合大量样品检测的场合使用。

\* 通讯联系人:李 亮,硕士,农艺师,主要研究方向为农产品质量安全检测技术。Tel : ( 0769 ) 23166505 , E-mail : mycolity@163.com.

基金项目:东莞市科技计划重点项目(200910810112)。

收稿日期:2010-03-29

## 1 实验部分

### 1.1 反吹微流控装置的工作原理

反吹微流控装置(QuickSwap)的流路形式见图 1, QuickSwap 设置及气路连接示意图见图 2。QuickSwap 是一个带有连接载气的辅助电子压力控制器 Aux EPC 的装置,可以通过编程改变其内部的压力,进样口、色谱柱、QuickSwap 之间以及 QuickSwap、火焰光度检测器(FPD)之间由阻尼管进行连接。在样品分析时,QuickSwap 内部的压力保持在 27.58 kPa。进样后,样品由进样口经色谱柱再经 QuickSwap 进入 FPD,直到需要的目标物都出峰后,改变 Aux EPC 的压力和进样口的压力,使 QuickSwap 的压力大于进样口压力,气流则改由 QuickSwap 反流向进样口,将色谱柱中的物质反吹回进样口,从分流口流出,实现反吹功能。

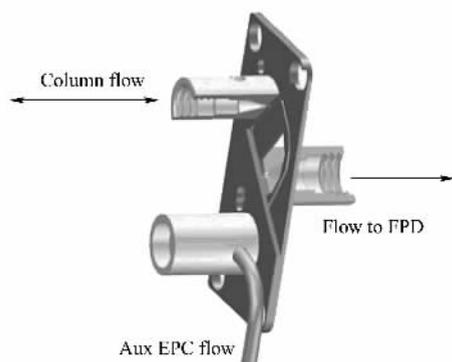


图 1 具有反吹功能的微流控模块示意图

Fig. 1 Schematic diagram of micro fluidic device with back-flush function (QuickSwap)

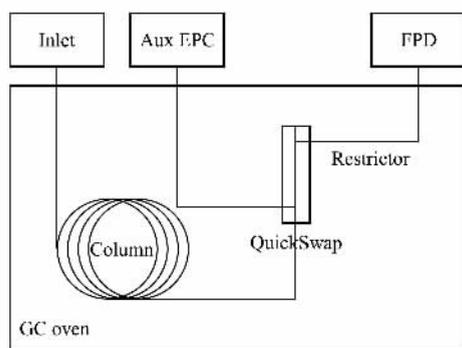


图 2 气相色谱配置及流程图

Fig. 2 Schematic diagram of gas chromatograph (GC) with FPD and back-flush device

### 1.2 仪器设备

Agilent 6890N 气相色谱仪(美国安捷伦),带配有磷滤光片的火焰光度检测器、自动进样器、分流/不分流毛细管柱进样口和 QuickSwap。食品加工机 Zymark Turbo vap LV 型自动浓缩工作站;Sig-

ma 3-16 离心机(德国 Sigma);HS501D 往复式振荡机(IKA-WERKE);50 mL 带螺纹盖塑料(聚丙烯)离心管;Dispensette Organic 5~50 mL 瓶顶分液器(德国 BRAND)。

### 1.3 材料与试剂

农药标准溶液:敌敌畏(dichlorvos)、甲胺磷(methamidophos)、乙酰甲胺磷(acephate)、治螟磷(sulfotep)、甲拌磷(phorate)、氧乐果(omethoate)、久效磷(monocrotophos)、磷胺(phosphamidon)、乐果(dimethoate)、毒死蜱(chlorpyrifos)、甲基对硫磷(parathion-methyl)、杀螟硫磷(fenitrothion)、甲基异柳磷(isofenphos-methyl)、对硫磷(parathion)、水胺硫磷(isocarbo-phos)和三唑磷(triazophos)均购自中国标准技术开发公司标样开发部,质量浓度均为 100 mg/L。乙腈和丙酮(高效液相色谱级)、氯化钠(分析纯)使用前在 140 °C 烘烤 4 h。气体:载气为氮气,纯度 ≥ 99.999%;燃气为氢气,纯度 ≥ 99.999%;助燃气体为压缩干燥空气。

### 1.4 样品制备

随机采集蔬菜样本约 1 000 g,用干净的纱布抹掉表面的泥土和水分,用食品加工机捣碎成浆。不能立即进行测定时放在 -20 °C 冰箱中保存。

### 1.5 标准溶液的配制

分别吸取 16 种农药单种标准液 0.80 mL 置于同一 25 mL 容量瓶中,加入丙酮定容至刻度,摇匀,配制成质量浓度为 3.20 mg/L 的混合标准液。再用丙酮配制成 0.040、0.080、0.16、0.80、1.60 mg/L 的标准曲线系列溶液。

### 1.6 样本提取和浓缩

称取蔬菜样本浆液 10.00 g 放入 50 mL 塑料离心管中,加入 20.0 mL 乙腈和 3~4 g 氯化钠,拧紧盖子,在往复式振荡器上振摇 20 min,然后将其放入离心机中,以 5 000 r/min 离心 2 min,取出后吸取 5 mL 上层液置于 1 支 30 mL 浓缩用玻璃试管中,置于浓缩工作站中,用 50 °C 水浴,通氮气吹至余约半粒绿豆大小(氮吹的压力不要超过 137.9 kPa)。取出,利用余温及通风橱的流动空气将余下的溶剂挥发至近干,向试管中加入 1.00 mL 丙酮,在漩涡混合器上混匀制作成样品溶液。将溶液转移到样品瓶中,进行 GC 分析。

### 1.7 色谱条件

色谱柱:DB-1701P 石英毛细管柱(30 m × 0.32 mm × 0.25 μm)。进样口条件:温度 220 °C,不分流,不分流时间为 0.75 min。柱温箱升温程序:起

始温度 100 ℃ ,以 30 ℃/min 升至 260 ℃( 保持 2.0 min ) ,再以 60 ℃/min 升至 270 ℃( 保持 3.0 min ) ,再以 100 ℃/min 降至 240 ℃( 保持 1.0 min )。色谱柱载气流量程序 :1.7 mL/min( 保持 7.9 min ) ,以 100 mL/min<sup>2</sup> 升至 9.0 mL/min( 保持 1.2 min ) ,再以 100 mL/min<sup>2</sup> 降至 0.1 mL/min( 保持 2.5 min )。色谱柱出口压力值 :27.6 kPa。QuickSwap 的压力程序 起始压力 27.58 kPa ( 保持 9.2 min ) ,以 100 mL/min<sup>2</sup> 升至 275.8 kPa ( 保持 2.5 min )。FPD 条件 :温度 240 ℃ ,氢气流速 80 mL/min ,空气流速 100 mL/min ,尾吹气流速 58.3 mL/min ,进样量 1.0 μL。

1.8 定性定量

以各农药的保留时间定性 ,即测得的样品中未知组分的保留时间与标样的保留时间相比较 ,如果样品中某组分的保留时间与标准品中某一农药的保留时间相差在 ± 0.05 min 内可以认定为该农药。以峰面积外标法定量。

2 结果与讨论

2.1 实验结果

2.1.1 混合标准溶液的色谱图 按上述测定条件对标准溶液进行测定 ,得到 16 种有机磷农药的混合标准溶液色谱图 ,见图 3。

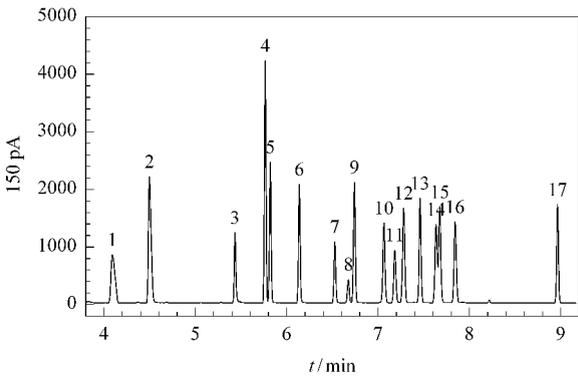


图 3 16 种有机磷农药混合标准溶液的气相色谱图  
Fig. 3 Gas chromatogram of a standard mixture of 16 organophosphorus pesticides  
For peaks , see Table 1.

2.1.2 线性关系 将上述配制的农药标准曲线系列溶液在上述色谱条件下进样 ,分别测定其峰面积 ,并以此作为纵坐标 ,农药标准液的质量浓度为横坐标 ,绘制标准曲线。结果表明 ,16 种有机磷农药在 0.040 ~ 3.20 mg/L 内具有良好的线性关系( 所得线性回归方程略 ) ,其相关系数均大于 0.999 6。

2.1.3 方法的准确度和精密度 在经分析不含上述农药的生菜中 ,按前述分析方法分别进行添加水

平为 0.050、0.10 和 0.50 mg/kg 的加标回收试验 ,每个浓度均做 6 个平行样 ,其平均回收率为 75.2% ~ 111.5% ,相对标准偏差为 2.8% ~ 10.4% ,符合农药残留检测的要求 ,具体数据见表 1。

表 1 16 种有机磷农药的加标回收率、精密度和检出限  
Table 1 Recoveries , precisions ( RSDs ) and limits of detection ( LODs ) of 16 pesticides

Peak No. in Fig. 3	Pesticide	LOD/ ( mg/kg )	Added/ ( mg/kg )	Recovery/ %	RSD/ %
1	dichlorvos	0.007	0.050	83.2	8.8
			0.10	86.7	9.6
			0.50	75.5	5.1
2	methamidophos	0.005	0.050	85.3	3.4
			0.10	86.4	4.7
			0.50	88.6	6.8
3	acephate	0.006	0.050	81.3	8.5
			0.10	92.4	7.9
			0.50	94.6	9.2
4	sulfotep	0.003	0.050	78.4	4.4
			0.10	76.8	3.6
			0.50	75.2	3.1
5	phorate	0.004	0.050	75.8	6.7
			0.10	76.1	5.3
			0.50	92.5	6.6
6	omethoate	0.005	0.050	105.3	5.6
			0.10	103.7	4.7
			0.50	102.0	6.1
7	monocrotophos	0.008	0.050	104.1	3.7
			0.1	103.5	4.8
			0.5	111.5	6.3
8	phosphamidon-I	0.01	0.050	111.3	10.4
			0.10	108.7	7.1
			0.50	105.4	9.2
9	dimethoate	0.004	0.050	101.9	2.8
			0.10	100.3	3.4
			0.50	108.6	3.1
10	chlorpyrifos	0.006	0.050	76.9	3.2
			0.10	82.3	3.7
			0.50	101.3	3.5
11	phosphamidon-II	0.008	0.050	106.9	9.3
			0.10	104.1	8.7
			0.50	103.7	8.4
12	parathion-methyl	0.005	0.050	84.1	4.7
			0.10	99.7	4.3
			0.50	102.0	4.0
13	fenitrothion	0.004	0.050	82.2	3.3
			0.10	85.5	4.8
			0.50	86.8	5.1
14	isofenphos-methyl	0.006	0.050	80.9	4.3
			0.10	78.6	4.6
			0.50	78.2	3.9
15	parathion	0.004	0.050	79.1	4.9
			0.10	90.2	4.2
			0.50	101.7	5.3
16	isocarbophos	0.004	0.050	93.8	6.9
			0.10	89.4	6.3
			0.50	92.0	3.8
17	triazophos	0.004	0.050	86.3	9.5
			0.10	84.7	6.7
			0.50	88.1	4.6

**2.1.4 方法的检出限** 本方法的各农药最低检出限是采用检测器基线噪声的 3 倍,结合所用农药标准溶液的浓度、定容体积、稀释倍数、称样量和响应值(峰高)各因素计算所得,有机磷农药为 0.003 ~ 0.01 mg/kg(见表 1),全部低于我国相关标准规定的蔬菜农药最高残留限量(MRL)值的要求。

## 2.2 样品前处理条件的选择

**2.2.1 样品提取方式的对比** 分别比较了高速匀浆 2 min、往复式机械振荡 20 min、超声波振荡提取 15 min 和漩涡混合 2 min 4 种提取方式。加标回收试验显示 4 种提取方法的结果均符合要求。匀浆方式通过人工操作使用高速匀浆机对样品逐一进行提取,需要人工的动作多,劳动量大,虽然用于匀浆的时间只有 2 min,但是加上清洗刀口的时间(2 min 以上),总耗时间无优势,且难以实现自动化。超声波振荡的方式可以批量进行,但样品经超声提取 15 min 后,用于分层的氯化钠溶解不够充分,还需要转移到振荡器上剧烈振荡 2 min 才能达到分层目的,增加了工作步骤。漩涡混合方式每个样品用时短,操作简单,但也要人工操作,对多个样品需要逐一进行操作。往复式机械振荡方式通过电动振荡机完成,节省人力,可大批量同时进行,为最佳提取方式。

**2.2.2 浓缩方法的选择** 分别比较了 80 °C 自然挥发、40 °C 旋转蒸发和水浴氮吹 3 种样品提取液浓缩方式。80 °C 自然挥发不需要特殊仪器,操作较简单,但速度较慢,容易产生冷凝水回流,敌敌畏、甲拌磷等农药回收率严重偏低;40 °C 旋转蒸发所需温度低,对提高回收率有一定的好处,且单个样品挥发的速度很快,但样品数量较多时,样品不能同时进行操作,只能依次进行。在水浴氮吹的浓缩方式下,比较了水浴温度分别为 30、40、50、60、70、80 °C 的氮吹浓缩效果,发现水浴温度为 50 °C(氮吹的压力不超过 137.9 kPa),既能保证各农药的回收率,又能达到较快的速度,为最佳浓缩方式。

## 2.3 基质影响及其消除

关于基质对蔬菜农药残留检测的影响已有很多报道<sup>[12]</sup>。在分析有机磷农药时,农药的响应值(这里指的是农药色谱峰的峰面积,下同)一方面受到本样品基质的影响,体现在将纯溶剂农药标准溶液的响应值与空白基质溶液配制的标准溶液的农药响应值比较时,基质标准溶液农药的响应值比纯溶剂标准溶液农药的响应值要大,有文献将此归因于基质的分析保护作用<sup>[13]</sup>;另一方面,农药的响应值还受到色谱仪中残留累积基质的影响,累积的基质越多,响应值越低,大约检测 20 多个样品后,灵敏度大

幅下降,极性强和(或)能形成强氢键作用的酸性和(或)碱性化合物受到基质的影响更大,如甲胺磷、乙酰甲胺磷、氧化乐果、磷胺(该农药有两种异构体:磷胺-I、磷胺-II)和久效磷。本实验通过连续进样的方式(进 5 针或 10 针实际样品、1 针纯溶剂配制的标准溶液,再 5 针或 10 针实际样品、1 针纯溶剂配制的标准溶液,如此反复)考察了农药标准溶液在有反吹和无反吹条件下的相对响应值受基质影响的情况,结果见图 4 和图 5。

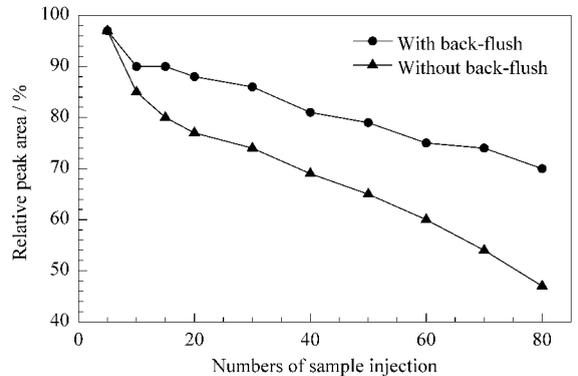


图 4 16 种农药的平均相对峰面积随进样数量的变化  
Fig. 4 Relative peak areas of 16 organophosphorus pesticides with numbers of sample injection

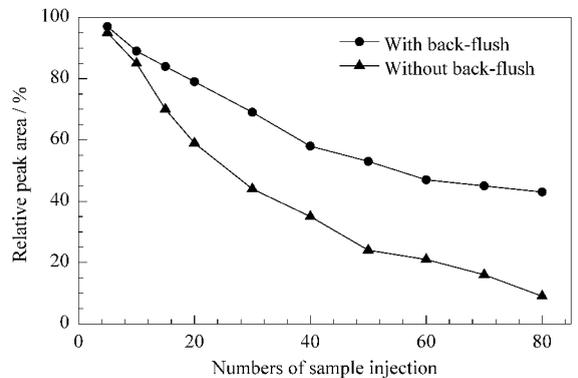


图 5 极性强的 5 种农药的平均相对峰面积随进样数量的变化  
Fig. 5 Relative peak areas of 5 highly polar organophosphorus pesticides with numbers of sample injection

Organophosphorus pesticides: methamidophos, acephate, omethoate, phosphamidon, monocrotophos.

减少(消除)基质影响的方法有多种:一是加入掩蔽剂(或分析保护剂),二是用与被分析对象相同的阴性样品提取基质液配制标准溶液校准(即基质匹配法),这两种方法可以改善基质对定量结果的影响,无法减少基质积累的影响。三是通过增加前处理净化步骤使提取液更“干净”,四是利用多次加标回收试验计算的回收率系数校准检测结果,五是加大仪器维护的频率,改善仪器的状态等。但这些方法应用起来都很复杂,不但大大增加了工作量和

时间,还加大了检测的成本和仪器的损耗。此外,采用高温烘烤老化色谱柱的方法也可以减少杂质峰对分析的干扰,但不能有效改善累积基质的影响,而且高温烘烤会导致难挥发的极性基质更深入色谱柱内部从而使灵敏度进一步下降。我们通过使用微流控装置实现反吹,优点主要体现在以下几个方面:一是使每次样品分析目标物出峰后残留在色谱柱中的基质可以反向从分流口排出,大大消除基质在色谱柱中残留的情况,有效减少基质积累引起的农药响应值急剧降低的问题,特别对于极性强的有机磷农药,

改善很明显(见图 4 和图 5);二是由于增加了反吹功能,无需延长高温烘烤老化色谱柱的时间,每次样品分析的运行时间可以缩短。三是由于改善了仪器分析样品的稳定性,所以可减少标准曲线系列的进样次数,节约时间。四是有效保护色谱柱,延长色谱柱的使用寿命,减少仪器的停机维护次数,节约成本,提高检测速度。表 2 比较了采用“有反吹”和“无反吹”两种方式分别检测 80 个样品的耗时情况。对比结果显示,检测 80 个样品可节省约 38% 的时间,大大提高检测的速度。

表 2 有无反吹装置分析 80 个样品所用的时间  
Table 2 Analysis time of 80 samples with or without back-flush device

Method	Analysis time of 1 sample	Analysis time of 80 samples	Sequence runs of calibration samples ( 5 levels )	Instrument maintenance time ( Balance time included )	Total time used	Time saving
Without back-flush	18	1440	720 ( 8 groups )	240 ( with 1 maintenance )	2400	
With back-flush	14	1120	350 ( 5 groups )	0	1470	930

### 3 结论

本文建立了一种高通量的蔬菜农药残留检测方法,可实现 16 种有机磷农药的残留检测。该法前处理过程简单,减少了基质积累的影响,提高了检测速度,方法的线性范围、准确度、精密度及检出限均满足相关标准的要求,适合农药检测任务量日益增加的实际需要。

#### 参考文献:

[ 1 ] GB/T 19648-2006  
 [ 2 ] GB/T 20769-2006  
 [ 3 ] NY/T 1379-2007  
 [ 4 ] NY/T 1380-2007  
 [ 5 ] NY/T 761-2008  
 [ 6 ] Wang D N , Dong Y Y , Zou M Q. Detection and Monitoring Technologies of Pesticide Residues. Beijing : Chemical Industry Press ( 王大宁,董益阳,邹明强. 农药残留检测与监

控技术. 北京:化学工业出版社),2006 :3  
 [ 7 ] Zhao X M , Yu T Q , Zhu G Q , et al. Chinese Journal of Chromatography ( 赵晓萌,于同泉,朱高群,等. 色谱), 2005 ,23( 3 ):328  
 [ 8 ] Hong W P , Chen Z H , Yang Z Q. Chinese Journal of Chromatography ( 洪蔚萍,陈枝华,杨忠强. 色谱), 2004 ,22 ( 3 ):289  
 [ 9 ] Li Y X , Sun C J , Zhao J H , et al. Chinese Journal of Chromatography ( 李永新,孙成均,赵剑虹,等. 色谱),2006 ,24 ( 3 ):251  
 [ 10 ] Shen W J , Yu K Y , Gui Q W , et al. Chinese Journal of Chromatography ( 沈伟健,余可垚,桂茜雯,等. 色谱), 2009 ,27( 4 ):391  
 [ 11 ] Pan C P , Wang L M , Kong X Y , et al. Chinese Journal of Chromatography ( 潘灿平,王丽敏,孔祥雨,等. 色谱), 2002 ,20( 6 ):565  
 [ 12 ] Huang B Y , Ouyang X H , Pan C P. Chinese Journal of Pesticide Science ( 黄宝勇,欧阳喜辉,潘灿平. 农药学报), 2005 ,7( 4 ):299  
 [ 13 ] Poole C F. J Chromatogr A ,2007 ,1158 :241