

气相色谱氮磷检测器法用于大米和面粉中 22种有机磷和有机氮农药多残留检测

龚道新, 杨仁斌, 赵卫星, 邹雅竹, 郭正元

(湖南农业大学农业环境保护研究所, 湖南 长沙 410128)

摘 要:选择气相色谱氮磷检测器法检测大米、面粉中 22 种有机磷和有机氮农药多残留。大米、面粉样品用丙酮/二氯甲烷(1:1, V/V)提取, 二氯甲烷萃取, 丙酮定容, GC-NPD 检测。结果表明, 该方法分离度较好, 灵敏度高, 方法的最小检出量在 5.180×10^{-12} ~ 8.541×10^{-11} g 之间。当添加浓度在 0.02~2.00 mg·kg⁻¹ 范围时, 大米平均添加回收率为 71.71%~109.16%, 变异系数为 1.16%~12.89%; 面粉平均添加回收率为 73.87%~113.48%, 变异系数为 1.75%~15.17%。该方法完全符合农药残留量检测的技术要求, 是一种快速有效的分析检测方法, 适合在实践中推广使用。

关键词:有机磷农药; 有机氮农药; 多残留检测; 毛细管气相色谱; 大米; 面粉

中图分类号:X830.2 **文献标识码:**A **文章编号:**1672-2043(2005)06-1243-06

Multiresidue Determination of Organophosphorous and Organonitrogen Pesticides in Rice and Flour by Gas Capillary Chromatography with Nitrogen-Phosphorus Detection

GONG DAO-xin, YANG Ren-bin, ZHAO Wei-xing, ZOU Ya-zhu, GUO Zheng-yuan

(Institute of Agro-Environmental Protection, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China)

Abstract: Nitrogen-phosphorus detector of Gas Capillary Chromatograph is characterized by high efficiency, high sensitivity and rapidity, especially, rubidium of NPD is used to have good selection and sensitivity to compounds containing nitrogen and phosphorus. Meanwhile as organophosphorous pesticides and organonitrogen pesticides such as methamidophos and acephate are volatile and decompose easily, a method was established to detect 22 organophosphorous and organonitrogen pesticides residue simultaneously in rice and flour by NPD of gas capillary chromatography. Rice and flour samples were extracted by acetone-dichloromethane, re-extracted by dichloromethane, then final residue was detected by gas capillary chromatography. The results showed that the minimum detection limits were in an arrange of 5.180×10^{-12} g to 8.541×10^{-11} g with high separated degree and wide linear relation. When fortified level ranged from 0.02 to 2.00 mg·kg⁻¹, the recoveries were found to be 71.71% to 109.16% with coefficients of variation ranged from 1.16% to 12.89% in rice, while from 73.87% to 113.48% with coefficients of variation ranged from 1.75% to 15.17% in flour. The method was rapid and practical analysis detection method that was in line with request of pesticide residue determination. It is suggested that the method be popularized and applied to practice.

Keywords: organophosphorous and organonitrogen pesticides; multi-residue analysis; gas capillary chromatography; rice; flour

在对复杂样品中的有机物进行分析时,通常采用的是液-液萃取、固相萃取(SPE)和超临界萃取(SFE)等技术。其中,液-液萃取技术是最早的分析技术,一直沿用至今,在常规实验室用得^[1]。固相萃取技术已

经广泛应用于食物样品中农药残留的分析^[2,3]。1993年由美国 Supelco 公司推出商品化固相微萃取装置,随后发展的固相微萃取(SPME)技术集萃取、分离、浓缩、进样于一体,简便快速,无需有机溶剂和复杂装置,可以直接与 GC, GC/MS 和 HPLC 连用分析,并大量应用于土壤^[4]、水^[5,6]、生物样品^[7,8]中的有机污染物的分析。而在检测器和方法选择方面,各国普遍采用的经典多残留分析方法不尽相同,如:德国 DFG 多残

收稿日期:2005-01-24

基金项目:湖南省环保局资助项目(2002008)

作者简介:龚道新(1964—),男,博士,湖南农业大学教授,主要从事农药生态毒理及有机污染物的分析检测与控制技术的研究。
E-mail:gdxdx4910@163.com

留方法 S19^[9,10]、美国 FDA 的多残留方法^[11,12]、日本官方多残留方法^[3,13]、荷兰卫生部的多残留分析方法。欧盟为协调各成员国的贸易行为,也在农药进入市场的有关法规中对农药残留分析做了统一的规定,成为欧盟各成员国残留分析方法认证的基准。国内很多单位结合自己的实际情况,选择的方法大多结合了国外先进的技术,取长补短。其中,值得一提的是美国 FDA 的多残留方法,它根据分析介质的脂肪含量、水分含量将前处理流程分为若干种,同时因检测方法不同(GC 或 HPLC)选择不同的提取溶剂,推荐了大量的色谱柱和分析条件,对检测限等方法要求详细列出,甚至还有 1 个多残留检测选择检索程序,使得复杂的技术流程简化而又有质量保证^[14]。德国 DFG 多残留方法 S19 虽然灵敏度好,检测农药种类多,检测范围广,但其缺点是操作步骤繁琐,因而在国内推广应用有一定的局限性。

本文旨在运用常规的液-液萃取技术,不需要复杂的净化过程,获得了满意的效果,建立了大米、面粉中有机氮和有机磷农药的多残留检测技术。该方法适应了中国加入 WTO 后解决粮食和农产品农药多残留日益严重问题的需要,为保障人类的食品安全和人们的身心健康安全提供技术支持,也为生产实际中农药的科学合理使用和管理提供科学依据。

1 试验仪器材料与方法

1.1 仪器与试剂

Agilent-6890N 型气相色谱仪(带氮磷检测器,美国安捷伦公司生产),SHY-2AS 水浴恒温振荡器(江苏环保仪器厂生产),ZFQ-85A 旋转蒸发器,扭力天平,FA2104S 电子天平,粉碎机。

分析纯试剂:丙酮、二氯甲烷、无水硫酸钠、氯化钠。

1.2 试验材料及样品

标准样品纯品:敌百虫、敌敌畏、甲胺磷、速灭威、乙酰甲胺磷、叶蝉散、仲丁威、残杀威、杀虫脒、氧化乐果、噁虫威、久效磷、速杀硫磷、呋喃丹、乐果、抗蚜威、甲基对硫磷、毒死蜱、对硫磷、水胺硫磷、速扑杀、三唑磷。以上农药纯度在 95.2%~99.6%,用丙酮溶解成单体溶液或混合标准溶液,浓度 0.02~2.00 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。

大米和面粉样品:市场购得,经小型植物粉碎机粉碎,过 40 目筛,充分混合,缩分法留取 500 g,备用。

1.3 试验方法和手段

1.3.1 样品前处理

用电子天平准确称取供试大米、面粉样品 5 g 于锥形瓶中(试验设空白对照 1 次,平行 3 次),往锥形瓶中各加入 50 mL 丙酮/二氯甲烷(1:1, V/V),用移液管准确移取 22 种混合标样于锥形瓶中,摇匀,于水浴恒温振荡器中振荡 1 h。布氏漏斗抽滤,旋转蒸发器中浓缩至约 5 mL,再转移到预先加入 10 mL 10% 的食盐水的 250 mL 分液漏斗中,摇匀。分别用二氯甲烷 20、20、10 mL 萃取 3 次,合并下层有机溶液;上层水相加入 10 mL $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 溶液,以二氯甲烷 20、20 mL 萃取 2 次,收集二氯甲烷相。与前有机溶液合并,旋转蒸发器中浓缩至约 2 mL,再用氮气流吹至近干,用筒型漏斗过无水硫酸钠,转移至具塞量筒中,丙酮定容至 5 mL,待测。

按下式求算相对应的添加回收率(%):

$$\text{添加回收率}(\%) = A/B \times 100\%$$

式中: A 为添加标准农药的浓度, $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$; B 为测得的样品溶液中所含供试农药的浓度, $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。

1.3.2 GC-NPD 检测条件

将 1.2 配制的单体溶液和混合标准溶液分别稀释至适当浓度,经 GC-NPD 进样检测,通过优化、综合选定气相色谱检测条件如下:

气相色谱仪 Agilent-6890N 型(带 NPD): 色谱柱为装有 DB-5 石英弹性毛细管柱 (30 m $\times$ 530 $\mu\text{m}\times$ 1 μm)。采用程序升温:初始 100 $^{\circ}\text{C}$,保持 2 min,20 $^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ 升至 170 $^{\circ}\text{C}$,保持 1 min,10 $^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ 升至 260 $^{\circ}\text{C}$,保持 15.5 min。进样口温度 260 $^{\circ}\text{C}$,检测器温度为 280 $^{\circ}\text{C}$ 。载气为氮气,流量为 4.8 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$;补偿流为氮气,流量为 5.0 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$;氢气为 2.5 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$;空气为 60.0 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$;保持恒压状态。进样量为 1~5 μL 。

1.3.3 标准曲线及其线性响应

将供试农药标准溶液分别配制成浓度为 0.02~2.00 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的标准工作溶液,在 1.3.2 的气相色谱分析条件下进样可获得相应浓度(x)对应的色谱峰面积(y),将这些数据进行统计处理,可获得各供试农药的标准曲线及其线性响应情况和相关系数(r)。以标准样品所对应的各种农药的保留时间进行定性分析,并以峰面积为定量指标,计算样品中各种农药的残留量。将标准溶液依次稀释进样测定,得到各供试农药的最小检出浓度。

2 结果与分析

2.1 供试农药的分离情况、保留时间

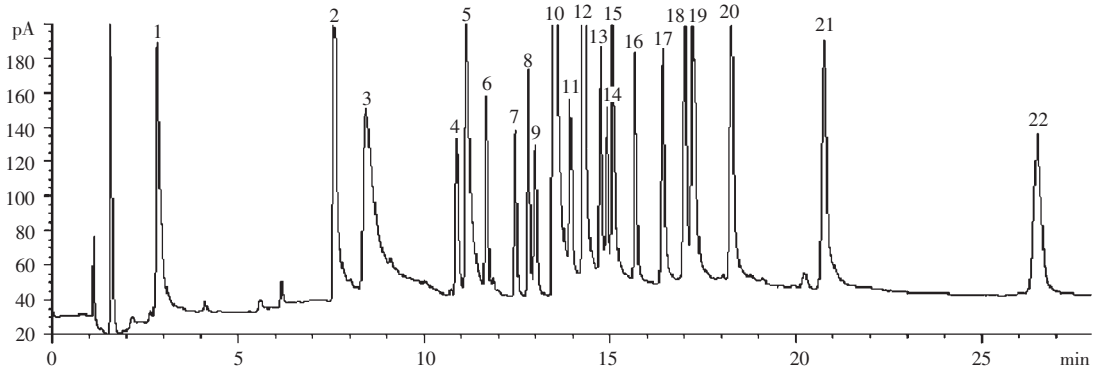
图 1 显示出了供试 22 种有机磷和有机氮类农药

色谱分离情况。结果表明,在上述气相色谱条件下,22种供试农药获得了很好的分离,各供试农药的添加浓度为0.2~2.0 mg·kg⁻¹,保留时间从敌百虫 2.901min 至三唑磷 26.597 min,可在 28 min 中内出峰完毕,具体见表1。图2为样品色谱图,各供试农药保留时间见表1,添加浓度为0.05~0.4 mg·kg⁻¹,具体见表2。

2.2 供试农药的线性响应

表1列出了22种供试农药的进样浓度(*x*)与所对应的气相色谱峰的峰面积(*y*)之间的相关线性方程式和相关系数(*r*)以及最小检出量及最小检出浓度。

结果表明,22种供试农药的标准曲线具有良好的线性相关性,都符合方程式 $y=ax+b$, 相关系数均在



编号: 1.敌百虫; 2.敌敌畏; 3.甲胺磷; 4.速灭威; 5.乙酰甲胺磷; 6. 叶蝉散; 7.仲丁威; 8.残杀威; 9.杀虫脒; 10.氧化乐果; 11.噁虫威; 12.久效磷; 13.速杀硫磷; 14.呋喃丹; 15.乐果; 16.抗蚜威; 17.甲基对硫磷; 18.毒死蜱; 19.对硫磷; 20.水胺硫磷; 21.速扑杀; 22. 三唑磷

图1 22种有机氮、有机磷农药色谱分离图

Figure 1 Chromatograms of 22 target pesticides drawn from GC analysis

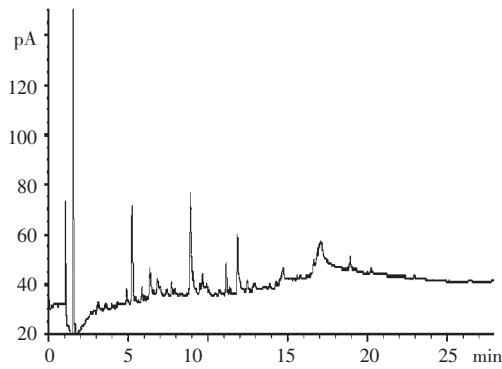


图2a 大米对照

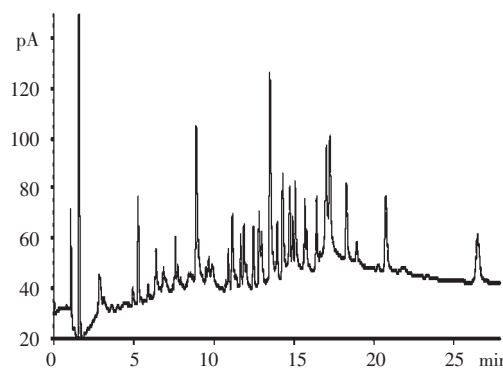


图2b 大米添加

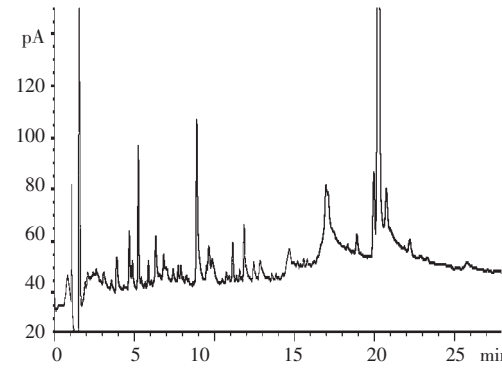


图2c 面粉对照

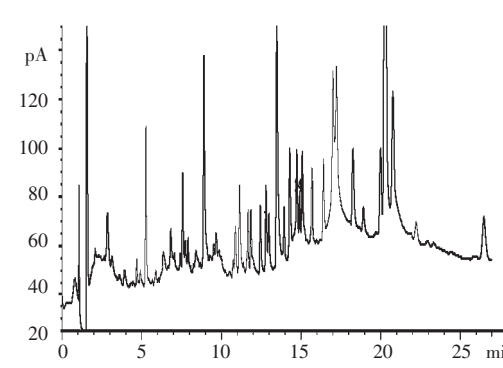


图2d 面粉添加

图2 大米、面粉色谱图

Figure 2 Chromatograms of rice and flour samples analyzed by GC

表 1 标准曲线方程,相关系数值及最小检出量及最小检出浓度

Table 1 Regression equation, correlation coefficients and the minimum detection limits and minimum determination concentration in the samples

农药名称	保留时间/min	标准曲线方程	相关系数(<i>r</i>)	最小检出量/ $\times 10^{-11}$ g	最小检出浓度/ $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$
敌百虫	2.901	$y=108.86x-2.671\ 9$	0.999 9	5.466	0.02
敌敌畏	7.617	$y=963.93x+7.407\ 6$	0.999 8	0.518	0.01
甲胺磷	8.666	$y=347.07x-31.815$	0.996 0	5.882	0.01
速灭威	10.937	$y=128.39x+1.470\ 0$	0.998 9	4.792	0.02
乙酰甲胺磷	11.248	$y=111.75x-1.808\ 1$	0.999 2	7.446	0.02
叶蝉散	11.709	$y=158.30x+0.641\ 4$	0.999 9	2.347	0.02
仲丁威	12.496	$y=157.11x+3.070\ 0$	0.999 6	2.679	0.01
残杀威	12.845	$y=100.46x+6.974\ 3$	0.999 7	3.807	0.02
杀虫脒	13.026	$y=45.374x+4.865\ 2$	0.999 1	8.541	0.04
氧化乐果	13.547	$y=290.28x-34.536$	0.998 8	3.053	0.004
噁虫威	13.979	$y=138.00x-11.903$	0.997 2	3.138	0.02
久效磷	14.332	$y=439.92x-6.841\ 0$	0.998 5	2.242	0.003
速杀硫磷	14.771	$y=377.88x+15.850$	0.997 8	1.073	0.005
呋喃丹	14.946	$y=104.33x-8.700\ 5$	0.995 3	3.759	0.02
乐果	15.119	$y=1156.9x-11.659$	0.997 8	0.527	0.001
抗蚜威	15.717	$y=182.43x+8.0581$	0.998 2	2.212	0.01
甲基对硫磷	16.462	$y=770.90x+1.519\ 5$	0.999 7	0.789	0.002
毒死蜱	17.058	$y=385.93x+17.989$	0.995 8	1.438	0.005
对硫磷	17.289	$y=1042.8x+2.190\ 5$	0.997 1	0.563	0.001
水胺硫磷	18.319	$y=360.61x+12.871$	0.999 3	1.610	0.005
速扑杀	20.832	$y=327.25x-4.935\ 2$	0.999 4	2.790	0.02
三唑磷	26.597	$y=465.28x-43.298$	0.996 7	3.409	0.01

0.99 以上, 达到极显著水平, 最小检出量为 $5.180\times 10^{-12}\sim 8.541\times 10^{-11}$ g,符合农药残留分析的技术要求。

2.3 供试农药的添加回收率及变异系数

分别向大米、面粉对照样品中添加 22 种供试农药,分析检测后得到的回收率和变异系数见表 2。

农药残留量检测方法是否可行和符合要求,主要以方法的灵敏度、准确度和精确度作为重要的衡量标准。通常准确度用添加回收率来表示,精确度以变异系数来表示^[15]。

由表 2 可知,供试农药在大米、面粉中的平均回收率为 71.71%~113.48%,平均回收率大于 90%,变异系数为 1.16%~15.17%;在大米、面粉中的添加回收率符合农药残留量检测的技术要求。

3 讨论

图 1 中有几个峰,如甲胺磷、乙酰甲胺磷、氧化乐果、速扑杀等有脱尾现象,其可能原因有:一是它们的热稳定性差,高温下容易分解或降解,分解或降解成中间体或中间产物;二是氮磷检测器的白色钨珠虽对氮和磷有很好的选择性,而色谱柱温度偏低,气化室温度并不高(260℃),且采用的是程序升温,所以部分

农药如甲胺磷、乙酰甲胺磷、氧化乐果、速扑杀等并没有完全燃烧,产生拖尾现象(建议尝试使用黑钨珠和加长喷嘴及细内径收集极解决这一问题);三是毛细管气相色谱柱膜偏薄。

图 2 中大米和面粉对照与一些农药的保留时间均有干扰,这是由于大米、面粉中含有丰富的蛋白质和油脂及杂质,在进行液-液萃取时,虽然绝大多数杂质已经去除,但仍然有杂质的干扰。确定杂质对某一农药有干扰时,连续将对照和添加样品进样检测,添加样品从低浓度到高浓度检测,若干扰物质在同一保留时间并不与添加浓度成正比关系,则可以选择在萃取浓缩后,用层析柱法、固相萃取法、凝胶色谱柱法净化^[16]。若确定干扰物质在同一保留时间与添加浓度成正比关系,则可以选择进添加单一样品对照和单体农药如毒死蜱标样溶液,以进一步定量确定干扰物质到底是不是毒死蜱。本试验在不进行样品复杂的净化条件下,样品的添加回收率、变异系数及样品分离情况都比较理想,虽有杂质的干扰,但不影响测定。

4 结论

在实践研究的基础上,借助毛细管气相色谱分析

表 2 添加回收率与变异系数											
Table 2 Recoveries and coefficients of variation for the fortified analysis of the method											
农药名称	添加浓度 /mg·kg ⁻¹	大米		面粉		农药名称	添加浓度 /mg·kg ⁻¹	大米		面粉	
		平均回收率	变异系数	平均回收率	变异系数			平均回收率	变异系数	平均回收率	变异系数
		/%	/%	/%	/%			/%	/%	/%	/%
敌百虫	0.05	73.12	2.70	74.73	5.99	久效磷	0.05	95.09	6.55	89.01	6.40
	0.2	75.58	2.18	75.39	4.07		0.10	98.16	6.42	89.94	4.96
	1.0	75.91	3.27	75.75	5.55		1.0	96.60	6.38	90.84	4.99
敌敌畏	0.02	98.16	5.32	93.91	7.88	速杀硫磷	0.02	74.68	5.52	99.93	3.93
	0.05	99.64	7.01	95.16	6.99		0.05	75.03	4.96	113.48	12.30
	0.2	98.44	3.80	94.45	8.14		0.5	73.90	6.76	104.74	5.19
甲胺磷	0.1	81.97	2.51	77.94	4.63	呋喃丹	0.1	103.26	4.53	94.62	3.12
	0.2	83.00	2.21	79.76	4.28		0.2	104.56	4.67	95.54	3.69
	1.0	82.49	4.03	78.17	1.75		1.0	104.26	4.65	98.32	3.98
速灭威	0.1	106.56	12.89	97.52	12.34	乐果	0.1	104.55	4.35	89.06	4.01
	0.2	99.90	5.22	107.11	12.61		0.3	108.69	7.41	92.54	3.13
	1.0	98.93	3.50	106.56	12.89		1.5	105.62	6.94	93.54	3.42
乙酰甲胺磷	0.1	81.51	5.80	73.87	6.12	抗蚜威	0.1	78.51	7.96	96.34	7.20
	0.2	82.19	5.88	74.07	4.73		0.2	82.34	12.58	99.00	10.95
	1.0	81.05	6.62	75.82	6.24		1.0	77.80	4.01	100.31	11.49
叶蝉散	0.1	91.89	1.36	84.60	4.99	甲基对硫磷	0.02	93.08	2.84	93.85	8.84
	0.2	91.25	1.16	85.71	3.86		0.05	96.35	1.87	94.95	7.90
	1.0	90.49	2.25	86.80	4.12		0.5	96.61	2.42	95.86	8.13
仲丁威	0.1	98.31	3.02	83.71	12.98	毒死蜱	0.05	73.36	4.52	96.76	5.25
	0.2	103.54	2.68	85.83	9.82		0.1	73.04	3.80	103.55	11.52
	1.0	101.32	4.13	86.97	11.13		1.0	71.71	1.87	105.94	10.69
残杀威	0.1	93.19	3.60	77.36	8.29	对硫磷	0.02	90.74	5.68	95.17	7.52
	0.3	94.83	10.41	78.42	5.67		0.05	92.14	4.29	96.60	6.63
	1.5	90.97	4.89	77.77	2.83		0.5	91.92	2.49	100.66	9.12
杀虫脒	0.2	78.74	3.82	95.76	6.05	水胺硫磷	0.05	88.31	3.30	101.62	5.31
	0.4	78.85	5.09	96.37	4.03		0.1	91.74	10.58	103.74	4.70
	2.0	79.50	3.58	98.33	3.91		1.0	90.20	7.56	104.35	3.21
氧化乐果	0.1	78.49	3.37	92.17	7.42	速扑杀	0.05	103.77	3.53	89.09	4.44
	0.3	81.10	2.35	101.51	15.17		0.1	106.76	3.88	93.04	3.43
	1.5	81.42	3.83	101.18	14.79		1.0	103.48	2.79	95.25	3.60
噁虫威	0.1	94.45	3.65	93.63	3.38	三唑磷	0.05	107.19	6.90	88.50	5.04
	0.2	93.85	4.36	94.88	2.57		0.1	109.16	7.37	90.85	4.38
	1.0	92.06	5.22	95.29	3.40		1.0	103.94	4.31	92.19	5.01

注:以上回收率的结果为 3 次检测结果的平均值。

技术,建立了大米、面粉中 22 种有机磷和有机氮类农药的快速检测方法。该方法的准确度和精确度符合农药残留分析的要求。通过应用证明了该方法的可行性。

参考文献:

[1] 贺德春,杨仁斌,龚道新,等.用气相色谱法测定面粉和 大米中 14 种农药残留量[J].湖南农业大学学报 (自然科学版),2004,30(2):161–164.

[2] 陈伟琪,侯小凤,张璐平. SPME/GC 联用测定蔬菜中残留有机磷农药的方法研究[J]. 厦门大学学报(自然科学版),2000,39(4) :509–515.

[3] Obana H, Okihashi M, Akutsu K, et a1. Determination of neonicotinoid pesticide residues in vegetables and fruits with solid phase extraction and liquid chromatography mass spectrometry[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*,2003,51(9):2501–2505.

[4] Baciochi R,Attina M,Lombardi G,et a1.Fast determination of phenols in contaminated soils[J].*Journal of Chromatography Analysis*,2001,(1):135–141.

[5] 田 明.固相微萃取–气相色谱法测定水中的 5 种有机磷农药[J].云南环境科学,2001,20(4) :60–62.

[6] Eisert R,Levsen K.Determination of organophosphorus, triazine, and 2,6–dinitroanalyline Pesticides in aqueous samples via SPME and GC with NPD detection [J].*Fresenius ´ Journal of Analytical Chemistry*,1995, 555–562.

- [7] Kusakabe T, Saito T, Takeichi S. Solid-phase microextraction and gas chromatography-mass spectrometry analysis of p,p'-DDE in biological samples [J]. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Application*, 2001, (1): 93-98.
- [8] Yang S S, Huang C B, Smetena I. Optimization of headspace sampling using solid-phase microextraction for volatile components in tobacco [J]. *Journal of Chromatography Analysis*, 2001, (1): 33-39.
- [9] Linkerhagner M, Stan H J. Screening analysis of pesticide residues in plant foodstuffs by capillary gas chromatography using the DFG multiresidue method S19: a comparison of customary detection by ECD/NPD with the novel atomic emission detector (AED) [J]. *Z Lebensm Unters Forsch*, 1994, 198(6): 473-479.
- [10] Stan H J. Pesticide residue analysis in foodstuffs applying capillary gas chromatography with mass spectrometric detection [J]. *Journal of Chromatography Analysis*, 2000, 892(1-2): 347-377.
- [11] Wong J W, Webster M G, Halverson C A, et al. Multiresidue pesticide analysis in wines by solid-phase extraction and capillary gas chromatography-mass spectrometric detection with selective ion monitoring [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2003, 51 (5): 1148-1161.
- [12] Schenck F J, Donoghue D J. Determination of organochlorine and organophosphorus pesticide residues in eggs using a solid phase extraction cleanup [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2000, 48 (12): 6412-6415.
- [13] Saito Y, Kodama S, Matsunaga A, et al. Multiresidue determination of pesticides in agricultural products by gas chromatography/mass spectrometry with large volume injection [J]. *The Journal of AOAC International*, 2004, 87(6): 1356-1367.
- [14] 乔雄梧. 国外食品中农药残留监测概况 [J]. *农药科学与管理*, 2000, 21(2): 11-15, 32.
- [15] 李本昌主编. 农药残留量实用检测方法手册 (1) [M]. 北京: 中国农业科技出版社, 2001, 13-35.
- [16] 刘 丹, 钱传范. 有机磷和有机氯杀虫剂在谷物籽粒中多残留分析方法的研究 [J]. *农药学学报*, 2000, 2: 77-82.