

有机磷残留量测定的多种检测方法

有机磷农药，是指含磷元素的有机化合物农药。主要用于防治植物病、虫、草害。多为油状液体，有大蒜味，挥发性强，微溶于水，遇碱破坏。其在农业生产中的广泛使用，导致农作物中发生不同程度的残留。有机磷农药对人体的危害以急性毒性为主，多发生于大剂量或反复接触之后，会出现一系列神经中毒症状，如精神错乱、语言失常，严重者会出现呼吸麻痹，甚至死亡。因此国内外均非常关注并重视有机磷农药的应用。在此我们汇总了几种常用的有机磷的检测方法供大家参考。

一、GPC法

以《GB 23376-2009 茶叶中农药多残留测定 气相色谱-质谱法》为例，前处理过程如下：

称取 2.0g 样品，置于 50mL 的离心管中

1) 加入 2mL 水，加入 15mL 乙腈-二氯甲烷 (1:1)，涡旋，超声 10min，离心 5min (5000r/min)，准确移取上清液至鸡心瓶中；

2) 往离心管中加入 15mL 乙腈-二氯甲烷 (1:1)，涡旋，超声 10min，离心 5min (5000r/min)，准确移取上清液至鸡心瓶中；弃去上层正己烷层，将下层乙腈相置于旋转蒸发瓶中，40℃ 水浴旋蒸至近干，加入 10mL 环己烷-乙酸乙酯 (1:1)，待净化。

注：此方法根据标准进行修改，但最后的回收率结果较低，在 62%-123% 之间，如需得到更好的回收率，可改用乙腈进行提取，其余前处理步骤不变，回收率在 73%-122% 之间。

原标准前处理过程如下：

称取 5.0g 样品，加入适量水，移入加速溶剂萃取仪的 34mL 乙腈-二氯甲烷 (1:1) 萃取池中（加热），然后用 60% 的乙腈-二氯甲烷 (1:1) 冲洗萃取池，萃取完毕后，将萃取液转移到旋转蒸发瓶中，40℃ 水浴旋蒸至近干，加入 10mL 环己烷-乙酸乙酯 (1:1)，待净化。

前处理过程解读：

实验采用乙腈-二氯甲烷 (1:1) 对样品中的目标物进行提取，再经过 GPC 进行净化，浓缩后用气相色谱-质谱仪进行检测。

实验进行的方法修改：

由于无加速溶剂萃取仪装置，因此直接用乙腈-二氯甲烷进行提取。

净化步骤

月旭 Bio-Beads SX3 凝胶色谱柱，规格 25×400mm

流动相：乙酸乙酯-环己烷 (1:1)

流速：5.0 mL/min

进样量：5.0 mL

收集时间：14-26min

将收集的流分旋转蒸发至近干，正己烷复溶并定容至 1mL。留待 GCMS 分析。

由于不同实验所用凝胶色谱柱的差异，本实验将样品收集的时间进行了重新定位和调整。

气相色谱条件

色谱柱	VM17, 30m×0.25mm×0.25μm
-----	-------------------------

进样口温度	250°C
升温程序	初始温度为 60°C，保持 1min；以 30°C/min 升温至 160°C；再以 10°C/min 升温至 290°C，保持 10min
载气	高纯氮气（纯度>99.999%）
进样方式	不分流进样
恒流模式	1ml/min
进样量	1µL

质谱条件

电离方式	电子轰击电离源（EI）
电离能量	70eV
传输线温度	280°C
离子源温度	230°C
四极杆温度	150°C
监测方式	选择离子扫描（SIM）
溶剂延迟	7min

色谱图及加标回收率结果：

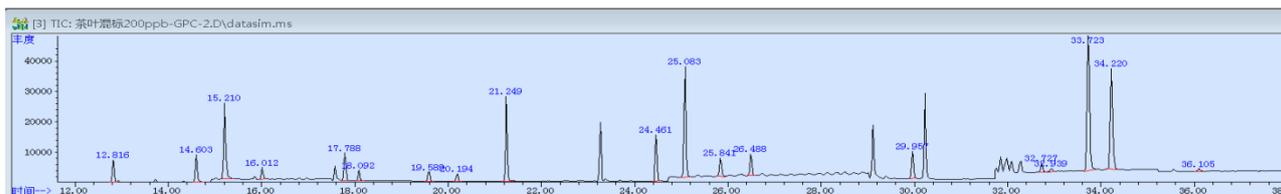


图 1. 农药混标 1ng/L 图谱

表 1: 相关峰信息

物质	峰号	保留时间	面积	开始时间	结束时间
δ-六六六	1	12.816	189059	12.745	12.896
β-六六六	2	14.603	231720	14.527	14.776
异稻瘟净-乐果	3	15.21	711666	15.144	15.406
α-六六六	4	16.012	113342	15.947	16.095
毒死蜱	5	17.788	226221	17.724	17.886
杀螟硫磷	6	18.092	97637	18.015	18.209
水胺硫磷	7	19.589	102600	19.508	19.704

α-硫丹	8	20.194	78787	20.121	20.305
p, p'-滴滴伊、o, p'-滴滴伊	9	21.249	786465	21.153	21.402
p, p'-滴滴涕	10	24.461	426948	24.385	24.566
联苯菊酯	11	25.083	1027001	24.985	25.217
三唑磷	12	25.841	195192	25.759	25.94
甲氰菊酯	13	26.488	219488	26.41	26.607
氯菊酯	14	29.957	246621	29.892	30.044
氟氰戊菊酯	15	32.727	91145	32.665	32.818
氟胺氰菊酯	16	32.939	39119	32.854	33.013
氰戊菊酯	17	33.723	1590322	33.625	33.879
	18	34.22	1242099	34.121	34.371
溴氰菊酯	19	36.105	32782	36.012	36.216

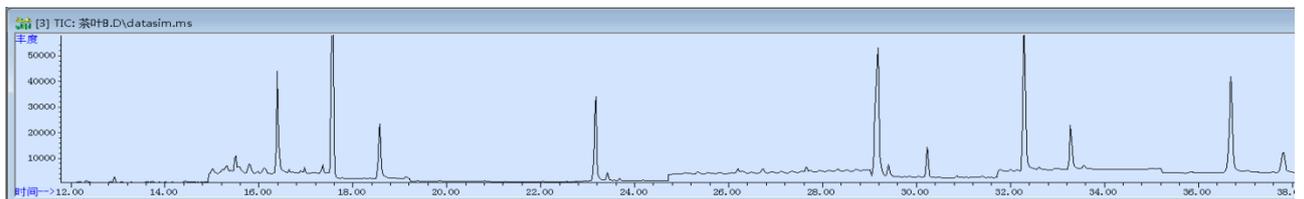


图 2 茶叶样品空白图谱

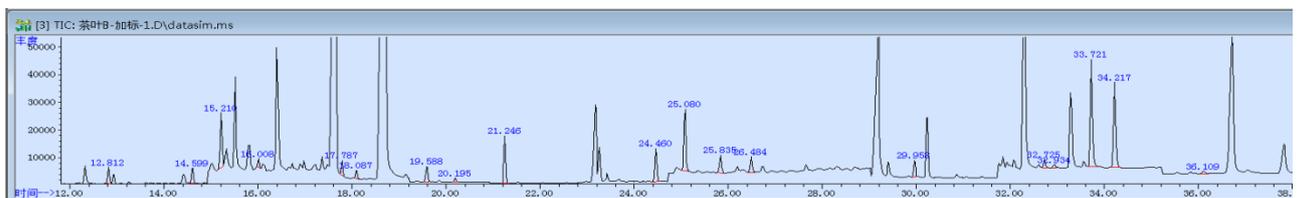


图 3 茶叶样品加标 0.4ng/kg 图谱

表 2: 加标回收率

物质	加标水平	平均回收率	RSD 值 (n=2)
δ-六六六	0.4ng/kg	81%	3.65%
β-六六六		60%	1.56%
异稻瘟净-乐果		92%	4.06%
α-六六六		83%	4.26%
毒死蜱		62%	4.75%
杀螟硫磷		89%	3.69%
水胺硫磷		123%	3.34%
α-硫丹		51%	4.38%
p, p'-滴滴伊, o, p'-滴滴伊		63%	0.90%
p, p'-滴滴涕		68%	5.00%
联苯菊酯		66%	4.24%
三唑磷		73%	5.09%
甲氰菊酯		82%	2.82%

氯菊酯		66%	4.01%
氟氰戊菊酯		74%	5.40%
氟胺氰菊酯		101%	3.68%
氰戊菊酯		94%	3.50%
		86%	4.06%
溴氰菊酯		98%	4.85%

二、SPE法

以《GB 23200.116-2019 食品安全国家标准 植物源性食品中 90种有机磷类农药及其代谢物残留量的测定 气相色谱法》为例，标准前处理过程如下：

称取 5g 样品（样品预先混匀）于 50ml 具塞离心管中，加入 10ml 水，浸润 20min，加入 5g 氯化钠、25ml 乙腈，剧烈震荡 2min，超声提取 20min，8000r/min 离心 5min；取 5ml 上清液于 45℃ 氮吹至近干，加入 2ml 乙腈-甲苯（3-1）溶解残渣，待净化。

原标准中的提取步骤为：

称取 5g 样品（样品预先混匀）于 150ml 烧杯中，加入 20ml 水，浸润 30min，加入 50ml 乙腈，在匀浆机中高速匀浆 2min 后用滤纸过滤，滤液收集到装有 5g-7g 氯化钠的 100ml 具塞量筒中，剧烈震荡 1min，在室温下静置 30min；取 10ml 上清液于 80℃ 水浴中氮吹蒸发至近干，加入 2ml 乙腈-甲苯（3-1）溶解残渣，待净化。

前处理过程解读：

①试样中有机磷类农药用乙腈提取，提取液经固相萃取柱净化后，使用带火焰光度检测器的气相色谱仪进行检测。

②对于不同的基质，前处理过程也有区别，所用的净化方法也不相同，本实验选用的基质为复合调味料，对应的净化方法为 Carb/NH₂ 柱净化。

本实验针对原标准进行了以下优化：

由于具塞量筒在实验室不经常使用，因此本实验减少提取液的用量，并选用了离心管来进行提取；由于使用离心管代替具塞量筒，因此将标准中的静置 30min 改为了超声后离心。

SPE 净化步骤

SPE 柱：月旭 Welchrom® Carb/NH₂，规格：500 ng/500 ng/6ml。

活化：5ml 乙腈-甲苯（3-1），弃去；

上样：待净化液全部上样，收集与 50ml 鸡心瓶中；

淋洗：5ml 乙腈-甲苯（3-1），收集与 50ml 鸡心瓶中；

洗脱：15ml 乙腈-甲苯（3-1），收集与 50ml 鸡心瓶中；

45℃ 旋蒸至干，加入 1ml 丙酮溶解残渣，过 0.22μm 滤头后上 GC 检测。

注：淋洗液可先润洗离心管后并入 SPE 小柱，以降低目标物的损失。

色谱条件

色谱柱：VM17，30.0m×0.25mm×0.25μm

柱温：150℃ 保持 2min，8℃/min 升到 210℃，5℃/min 升到 250℃，保持 15min

进样口：250℃

检测器（FPD）：250℃

载气：N₂，尾吹气流速：60ml/min；氢气流速：75ml/min，空气流速：90ml/min。

进样方式：脉冲不分流进样，脉冲压力 25psi，脉冲时间 0.75min

进样量：4 μ L

载气流量：2.0 mL/min

色谱图及加标回收率结果：

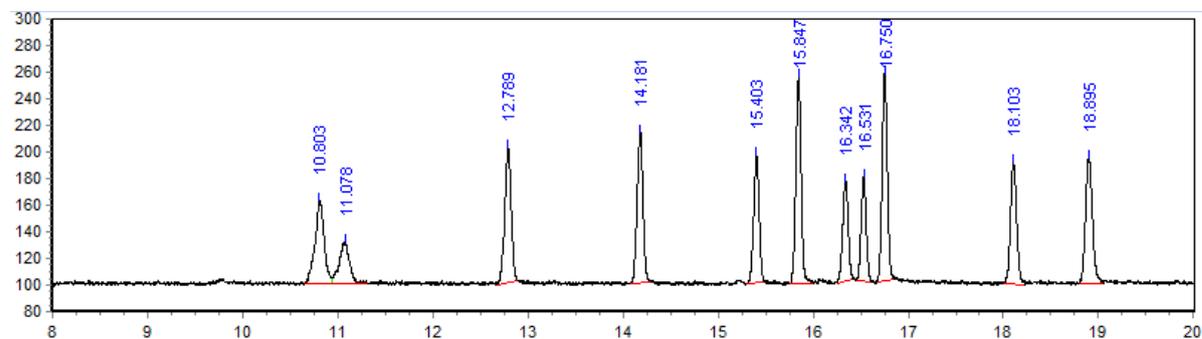


图 1.11 种有机磷标准品 0.1ng/L 图谱

序号	峰名称	保留时间 /Min	峰高 /Hz	峰面积 /[Hz*s]	相对峰面积 /%	分离度	塔板数
1	灭线磷	10.803	61.97	413.11	8.8312	44.888	70188
2	硫线磷	11.078	31	233.93	5.0008	1.587	58462
3	二嗪磷	12.789	101.74	479.03	10.2404	11.261	177160
4	乐果	14.181	113.27	484.39	10.3549	11.849	247670
5	皮蝇磷	15.403	95.57	385.6	8.243	11.08	329869
6	毒死蜱	15.847	155.31	607.05	12.9772	4.244	384558
7	甲基对硫磷	16.342	75.02	308.28	6.5902	4.679	353508
8	马拉硫磷	16.531	77.85	287.77	6.1517	1.824	455155
9	对硫磷	16.75	155.72	585.13	12.5084	2.236	462427
10	水胺硫磷	18.103	91.23	414.41	8.8589	12.531	376305
11	啉硫磷	18.895	94.08	479.16	10.2432	6.322	322490

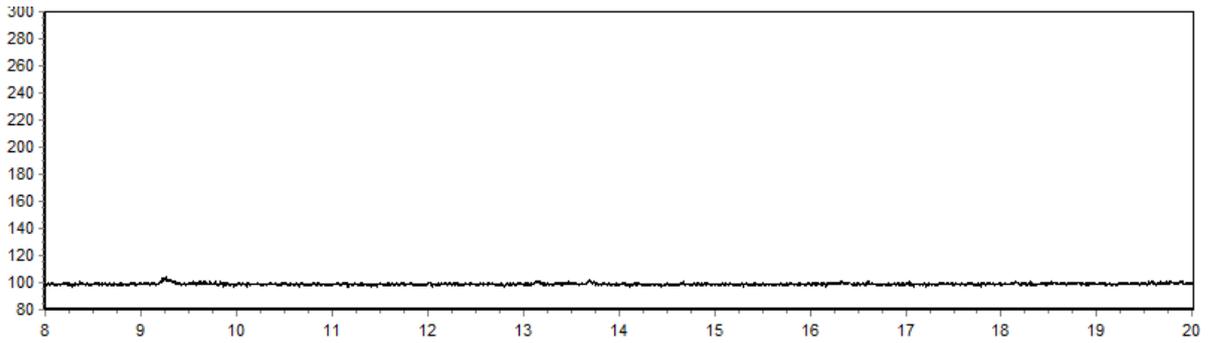


图 2 调味料样品空白图谱

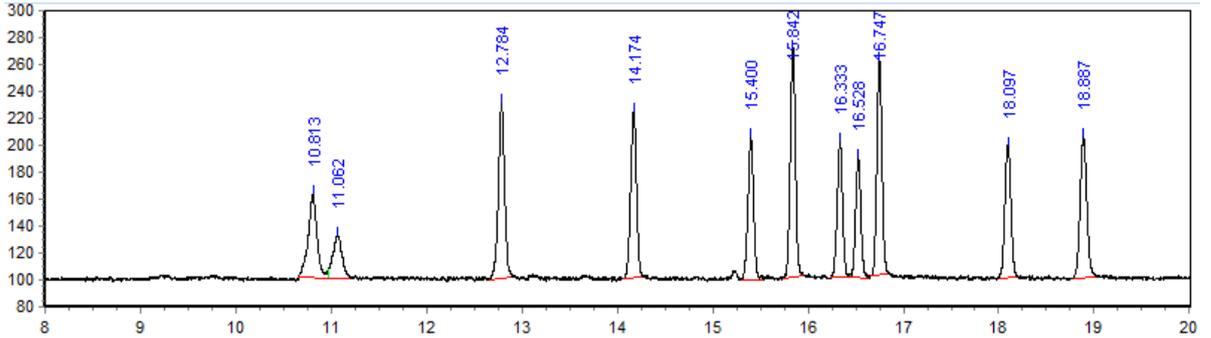


图 3.调味料样品加标 100.0ng/g图谱

表 1.加标回收率表

分类	加标水平 ng/g	回收率/%	RSD (n=2) /%
灭线磷	100	100.35%	2.36
硫线磷		93.66%	2.24
二嗪磷		126.70%	2.45
乐果		111.53%	1.29
皮蝇磷		115.43%	0.75
毒死蜱		108.77%	1.57
甲基对硫磷		135.37%	4.79
马拉硫磷		123.59%	2.45
对硫磷		106.35%	3.44
水胺硫磷		107.58%	2.94
啉硫磷		111.02%	2.18

三、QEChERS法

《GB 23200.116-2019 食品安全国家标准 植物源性食品中 90 种有机磷类农药及其代谢物残留量的测定 气相色谱法》，前处理及净化步骤如下：

植物油：

称取 5g 样品（样品预先混匀）于 50ml 具塞离心管中，加入 5ml 水，15ml 乙腈。加入盐析包，剧烈震荡 2min，超声提取 20min。4200r/min 离心 5min，吸取 8ml 上清液到净化管中，涡旋混匀 1min，4200r/min 离心 5min，取 5ml 上清液于 45℃ 氮吹至干，加入 1ml 丙酮溶解残渣，经 0.22μm 滤头过滤后，留待 GC 分析。

盐析包：1.5g无水乙酸钠+6g无水硫酸镁

QuEChERS净化管：15ml离心管-150mgC18E+150mgPSA+900mg MgSO₄。

坚果及油料作物：

称取 5g样品（样品预先粉碎、混匀）于 50ml具塞离心管中，加入 10ml水，浸泡 10min。加入 5g氯化钠，25ml乙腈，剧烈震荡 2min，超声提取 20min。8000r/min离心 5min，吸取 8ml上清液到净化管中，涡旋混匀 1min，8000r/min离心 5min，取 5ml上清液于 45℃氮吹至干，加入 1ml丙酮溶解残渣，经 0.22μm滤头过滤后，留待 GC分析。

QuEChERS净化管：15ml离心管-150mgC18E+150mgPSA+900mg MgSO₄。

前处理过程解读：

①试样中有机磷类农药用乙腈提取，提取液经分散固相萃取净化后，使用带火焰光度检测器的气相色谱仪进行检测。

②本实验选用了菜籽油和山核桃这两种基质，其对应的样品前处理方法有一些差异，主要体现在加入提取液的量及盐析包的差别。

气相色谱条件

色谱柱：VM17，30.0m×0.25mm×0.25μm

柱温：150℃保持 2min，8℃/min升到 210℃，5℃/min升到 250℃，保持 15min

进样口：250℃

检测器（FPD）：250℃

载气：N₂，尾吹气流速：60ml/min；氢气流速：75ml/min，空气流速：90ml/min。

进样方式：脉冲不分流进样，脉冲压力 25psi，脉冲时间 0.75min

进样量：4μL

载气流量：2.0 ml/min

色谱图及加标回收率结果：

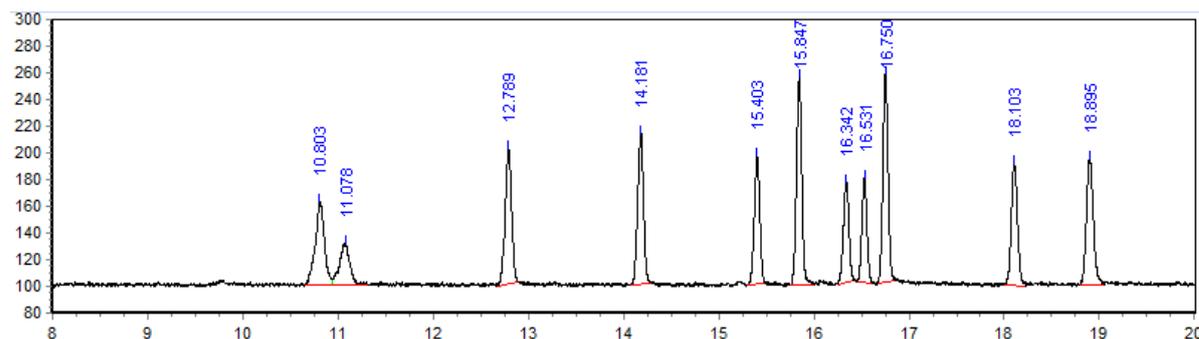


图 1.11 种有机磷标准品 0.1ng/L 图谱

序号	峰名称	保留时间 /Min	峰高 /Hz	峰面积 /[Hz*s]	相对峰面积 /%	分离度	塔板数
1	灭线磷	10.803	61.97	413.11	8.8312	44.888	70188

2	硫线磷	11.078	31	233.93	5.0008	1.587	58462
3	二嗪磷	12.789	101.74	479.03	10.2404	11.261	177160
4	乐果	14.181	113.27	484.39	10.3549	11.849	247670
5	皮蝇磷	15.403	95.57	385.6	8.243	11.08	329869
6	毒死蜱	15.847	155.31	607.05	12.9772	4.244	384558
7	甲基对硫磷	16.342	75.02	308.28	6.5902	4.679	353508
8	马拉硫磷	16.531	77.85	287.77	6.1517	1.824	455155
9	对硫磷	16.75	155.72	585.13	12.5084	2.236	462427
10	水胺硫磷	18.103	91.23	414.41	8.8589	12.531	376305
11	啶硫磷	18.895	94.08	479.16	10.2432	6.322	322490

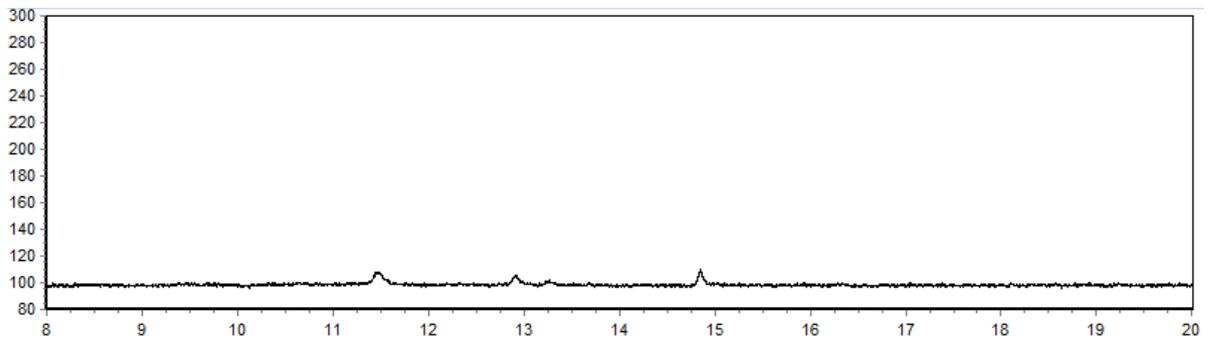


图 2 植物油样品空白图谱

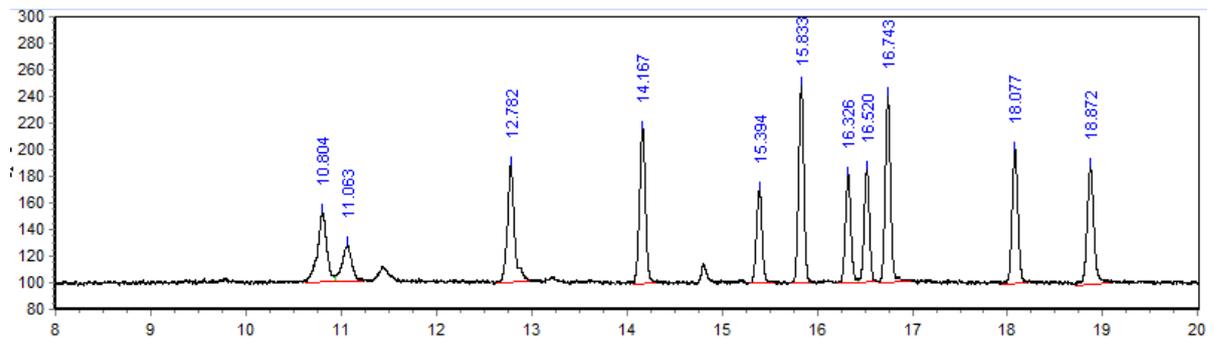


图 3 植物油样品加标 60.0ng/g 图谱

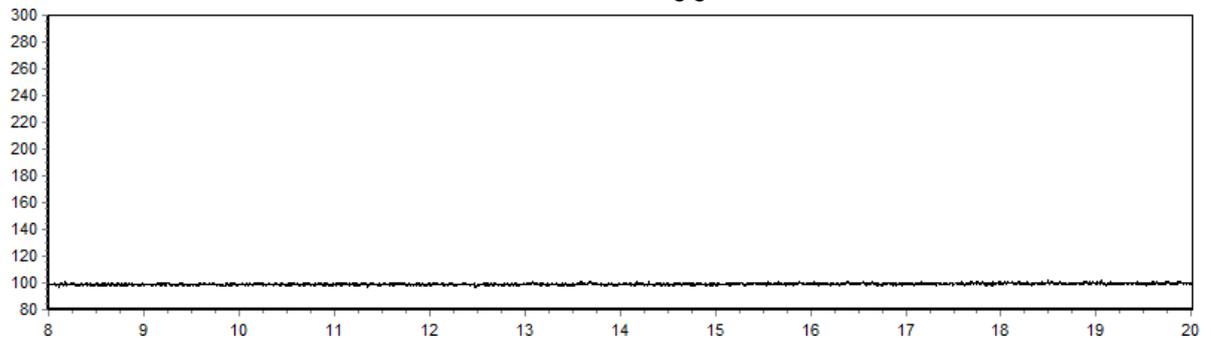


图 4 山核桃样品空白图谱

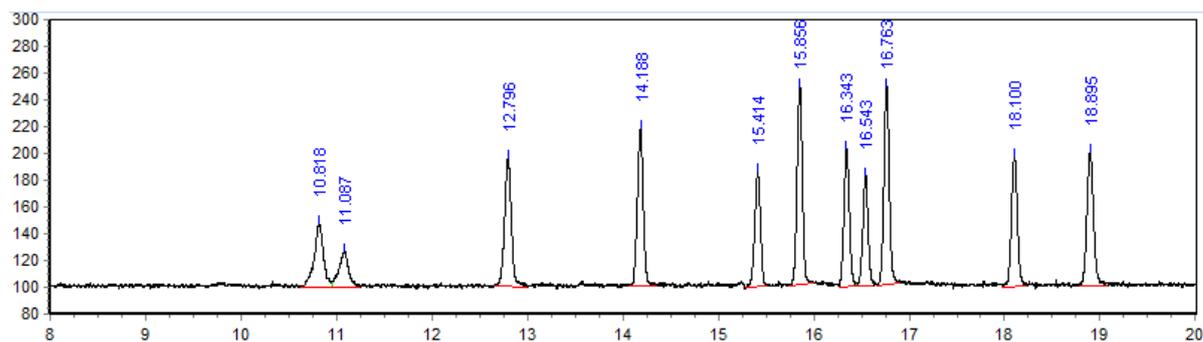


图 5.山核桃样品加标 100.0ng/g图谱

表 1.加标回收率表

分类	加标水平 ng/g	回收率/%	RSD (n=2) /%
灭线磷	60	87.88%	2.92
硫线磷		86.48%	1.97
二嗪磷		97.61%	2.39
乐果		106.57%	1.71
皮蝇磷		76.91%	1.30
毒死蜱		95.70%	1.03
甲基对硫磷		106.02%	0.04
马拉硫磷		114.57%	0.78
对硫磷		95.50%	1.43
水胺硫磷		106.95%	3.38
啶硫磷		95.80%	3.08