

# 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：

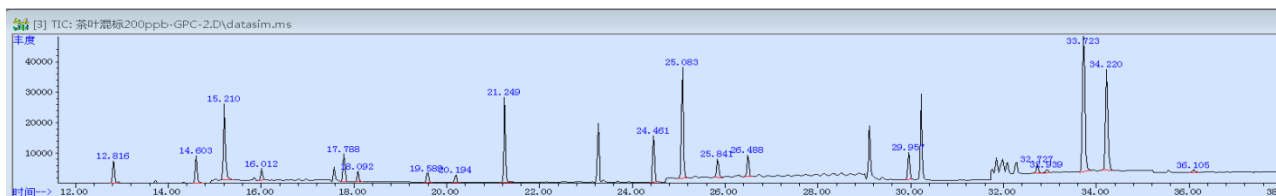


图 1. 农药混标 1ng/L 图谱

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 |

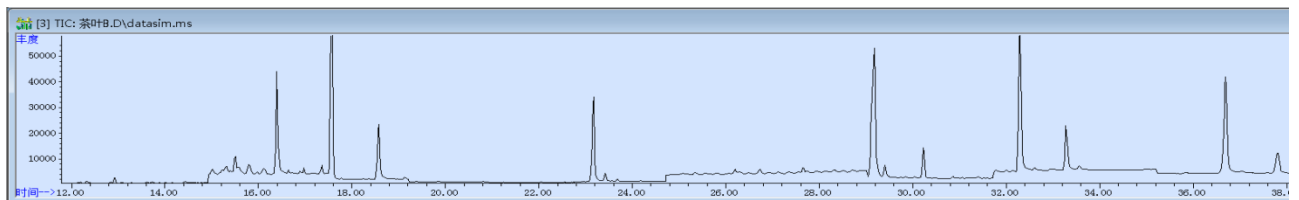


图 2 茶叶样品空白图谱

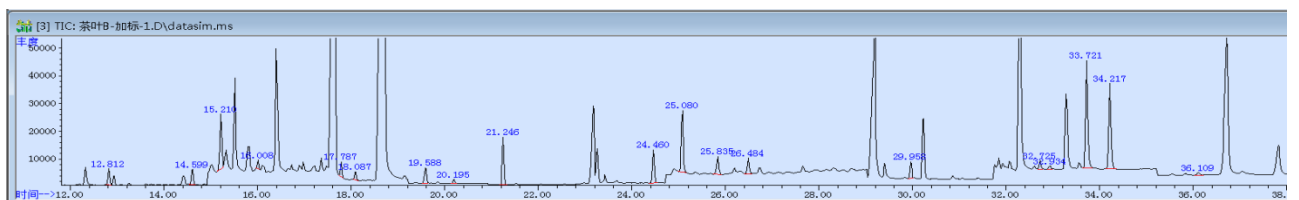


图 3 茶叶样品加标 0.4ng/kg 图谱

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/NH<sub>2</sub> 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/NH<sub>2</sub>，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：N<sub>2</sub>，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 $\mu$ L

载气流量：2.0 ml/min

色谱图及加标回收率结果：

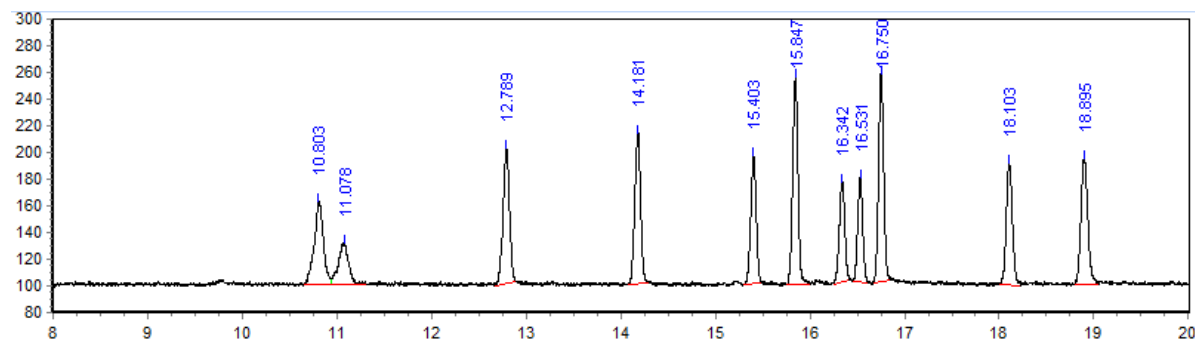


图 1.11 种有机磷标准品 0.1ng/L 图谱

| 序号 | 峰名称   | 保留时间<br>/Min | 峰高<br>/Hz | 峰面积<br>/[Hz*s] | 相对峰面积<br>/% | 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 |

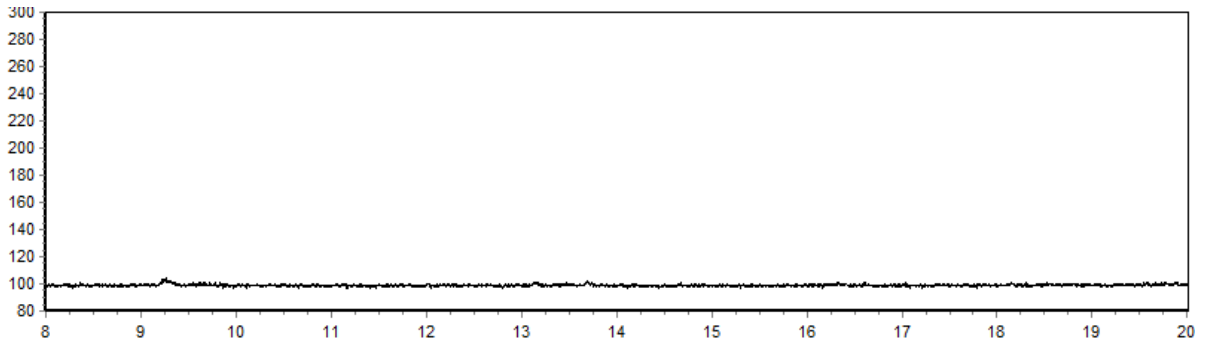


图 2 调味料样品空白图谱

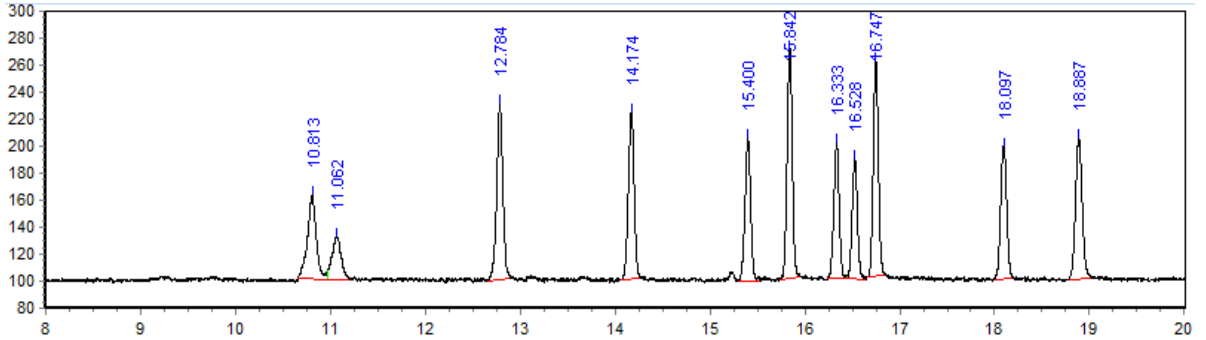


图 3.调味料样品加标 100.0ng/g图谱

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 MgSO<sub>4</sub>。

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 MgSO<sub>4</sub>。

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：N<sub>2</sub>，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：

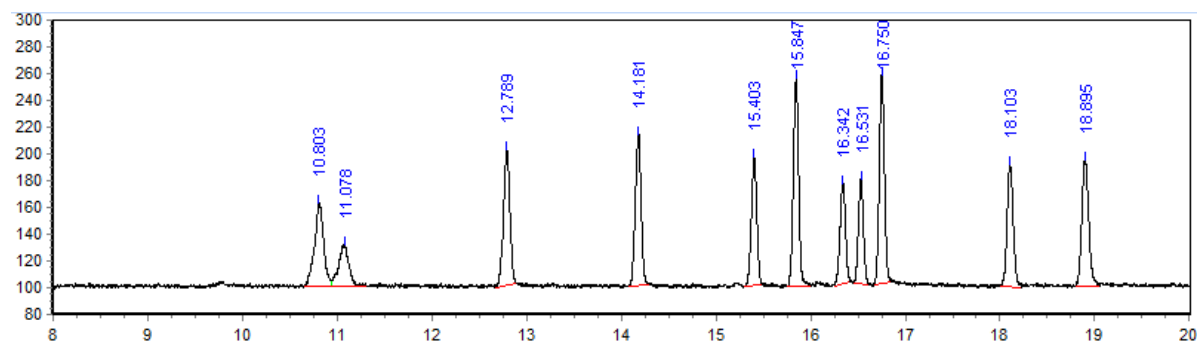


图 1.11 种有机磷标准品 0.1ng/L 图谱

| 序号 | 峰名称 | 保留时间<br>/Min | 峰高<br>/Hz | 峰面积<br>/[Hz*s] | 相对峰面积<br>/% | 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 |

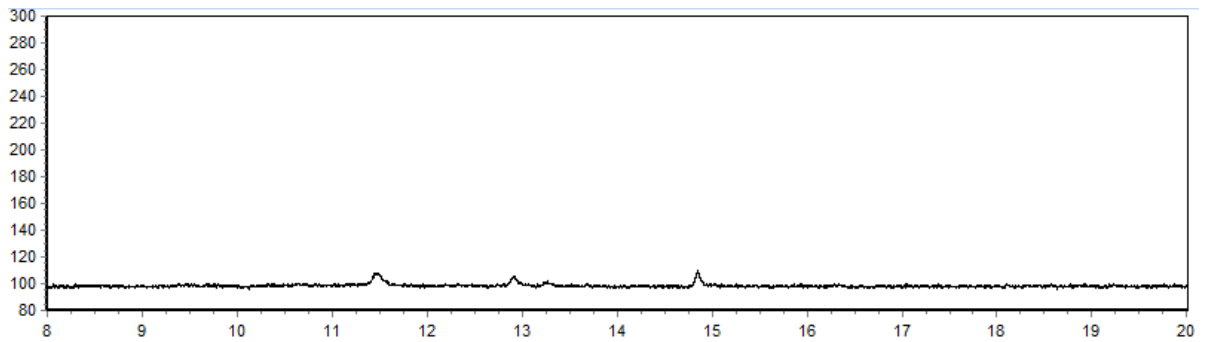


图 2 植物油样品空白图谱

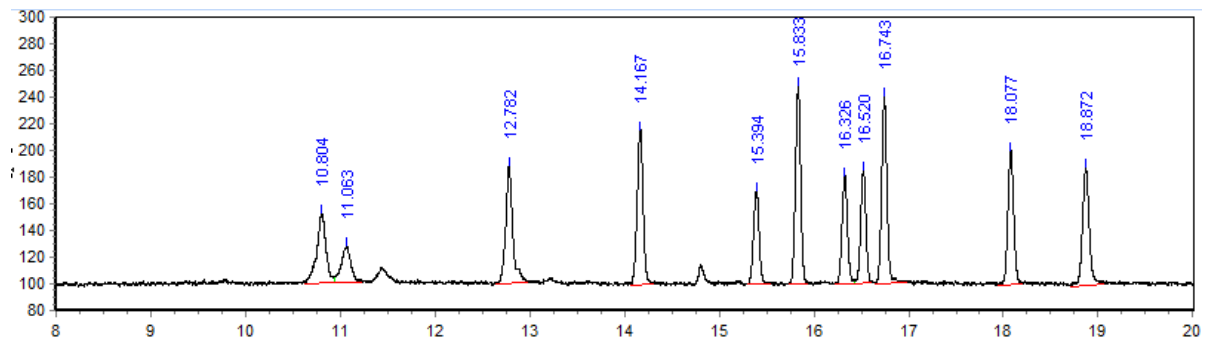


图 3 植物油样品加标 60.0ng/g 图谱

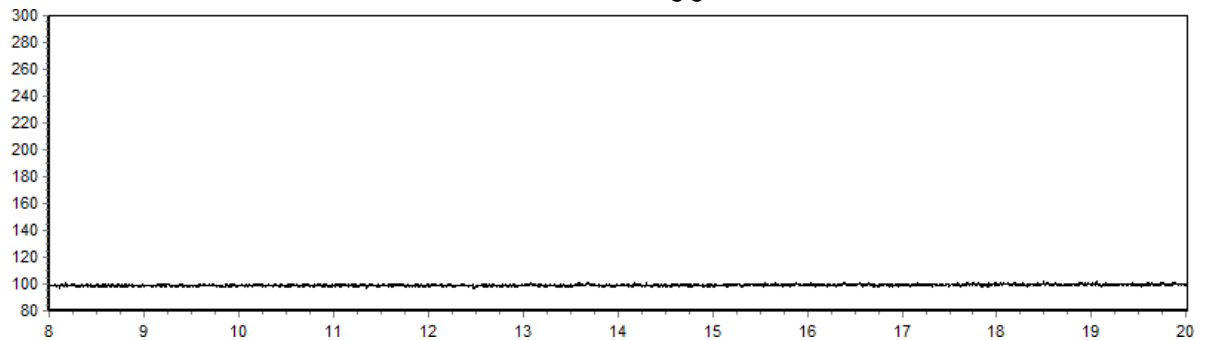


图 4 山核桃样品空白图谱



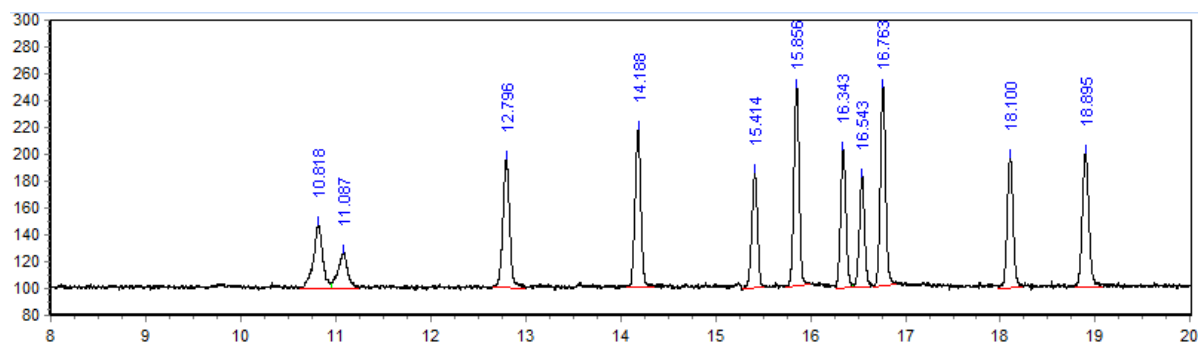


图 5.山核桃样品加标 100.0ng/g图谱

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         |