

采用 GC-FPD 和 GC-MS-EI 方法对西兰花中 氧化乐果残留检测和确证研究

董振霖, 苏明明, 杨春光, 庞艳华, 曹际娟*

(辽宁出入境检验检疫局, 大连 116001)

摘要: **目的** GC-FPD 检测西兰花中氧化乐果疑似阳性, 联合 GC-MS 对检测结果进行确证。 **方法** 气相色谱条件完全相同, 分别采用 HP-1、DB-5 和 DB-1701, 极性不同但规格相同(30 m×0.25 mm×0.25 μm, Agilent 公司)的 3 种色谱柱检测氧化乐果, 对其保留时间的影响及原理的不同进行了讨论。 **结果** 在氧化乐果的出峰位置有一个比较大的峰, 与其同时流出的物质确定为干扰物质。 **结论** 联合 GC-MS 进行验证, 使检测方法多样化, 能有效判断阳性结果真伪。

关键词: 氧化乐果; 疑似阳性; 色谱柱; 确证

Research of omethoate residue in broccoli and validation studies by GC-FPD and GC-MS-EI methods

DONG Zhen-Lin, SU Ming-Ming, YANG Chun-Guang, PANG Yan-Hua, CAO Ji-Juan*

(Liaoning Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Dalian 116001, China)

ABSTRACT: Objective To suspect omethoate residue in broccoli by GC-FPD and GC-MS-EI methods. **Methods** At the same chromatography condition, three kinds of different chromatographic columns (HP-1, DB-5, DB-1701) were used to detect omethoate, while discussing the impact to the retention time and the principles of the three columnss. **Results** Near to the retention time of omethoate, there was a big peak interfering with test results. Compared with the three columns results, finally the samples did not contain omethoate. **Conclusion** Compared with the method of GC-FPD, the method of GC-MS can make the veracity of the test.

KEY WORDS: omethoate; suspected positivity; column; confirmation

1 引言

氧化乐果属于高度有机磷农药生产中被广泛使用, 国家已经在果蔬生产上禁止使用甲胺磷、氧化乐果、甲拌磷等有机磷类高毒农药^[1,2], 但有些地方还是违反规定, 在水、土壤、水果、蔬菜中时常会检测到氧化乐果的残留^[3-5], 对人体健康构成了严重的威胁。近几年来国内外采用多种检测方法检测有机磷

农药残留: 气相色谱(GC)^[6,7]、毛细管电泳法^[8]、气相色谱质谱法(GC-MS)检测氧化乐果^[9-12]等技术已经趋于成熟。在有机磷农药残留检测中, 大多数实验室采用 1701 固定相、内径 0.53 mm 的色谱柱进行检测。因为有机磷农药多数属于中等极性, 采用中等极性的 1701 色谱柱, 有利于各种有机磷农药的有效分离; 采用 0.53 mm 内径的色谱柱相比较 0.32 mm 和 0.25 mm 内径色谱柱虽然柱效稍低, 但其耐污染的能力远

*通讯作者: 曹际娟, 研究员, 主要研究方向为食品安全检测。E-mail: cjj0909@163.com

*Corresponding author: CAO Ji-Juan, Professor, Technical Center of Liaoning Entry-Exit Inspection & Quarantine Bureau, No.60, Changjiang East Road, Zhongshan District, Dalian 116001, China. E-mail: cjj0909@163.com

远大于其他两种规格色谱柱, 可以将提取液直接进样至色谱仪, 不需要其他任何净化, 可以大量节约前处理时间。本实验室在采用此色谱柱日常检测有机磷农药时, 效果都非常理想, 但在检测西兰花中氧化乐果残留的时候, 遇到了很大的困难。

锦州出入境检验检疫局在检测西兰花中的氧化乐果残留监控的样品时, 发现多批样品检测结果疑似阳性, 含量达到 0.4~5.0 mg/kg, 残留量很大, 怀疑为假阳性, 送辽宁出入境检验检疫局进行阳性确证。在氧化乐果的出峰位置有一个比较大的干扰物质与其同时流出。为了确证其疑似阳性, 本实验室采用了不同的确证方法。采用 HP-1、DB-5 和 DB-1701(30 mm×0.25 mm×0.25 μm, Agilent 公司)3 种不同规格的细内径毛细管柱比较研究氧化乐果和干扰杂质的分离, 取得了比较理想的效果。同时采用 GC-MS-SCAN 方法对西兰花样品中的杂质干扰物进行了质谱鉴别和解析, 并最终确定了干扰物质的化学成分。为西兰花的检测提供了理论支撑。同时建立了 GC-FPD 和 GC-MS-EI-SIM 的两种不同确证方法。

2 材料与方 法

2.1 仪器与试剂

Agilent 气相色谱质谱仪(美国安捷伦公司, 6890N)、带火焰光度检测器 FPD(美国安捷伦公司, 7890B)、旋蒸仪 K.D, IKA 均质仪。氧化乐果(国药集团)用甲醇配制成标准储备液, 无水硫酸钠(国药集团)。乙腈、正己烷为分析纯。

2.2 GC-FPD 检测色谱条件的选择

检测器: FPD。

色谱柱 HP-1 载气: 氮气, 1.2 mL/min, 线速度: 30.8 cm/s。进样口温度: 250 °C, 检测器温度: 250 °C。空气流速: 100 mL/min, 氢气流速: 75 mL/min, 辅助气: 高纯氮气, 60 mL/min。温度程序: 70 °C 起始, 15 °C/min 升至 270 °C, 保持 3 min。进样方式: 不分流进样, 0.75 min 开阀。进样量: 1 μL。标准溶液: 氧化乐果标准溶液 0.2 μg/mL。

色谱柱 DB-1701(30 mm×0.53 mm×1.0 μm, Agilent 公司)载气: 氮气, 1.2 mL/min, 线速度: 30.8 cm/s。进样口温度: 250 °C。检测器温度: 250 °C。空气流速: 100 mL/min, 氢气流速: 75 mL/min, 辅助气: 高纯氮气, 60 mL/min。温度程序: 70 °C 起始, 15 °C/min 升至

270 °C, 保持 3 min。进样方式: 不分流进样, 0.75 min 开阀。进样量: 1 μL。标准溶液: 氧化乐果标准溶液 0.2 μg/mL。

色谱柱 DB-5(30 mm×0.25 mm×0.25 μm, Agilent 公司)载气: 氮气, 1.2 mL/min, 线速度: 30.8 cm/s。进样口温度: 250 °C。检测器温度: 250 °C。空气流速: 100 mL/min, 氢气流速: 75 mL/min, 辅助气: 高纯氮气, 60 mL/min。温度程序: 70 °C 起始, 15 °C/min 升至 270 °C, 保持 3 min。进样方式: 不分流进样, 0.75 min 开阀。进样量: 1 μL。标准溶液: 氧化乐果标准溶液 0.2 μg/mL。

2.3 GC-MS 定性条件的选择

色谱柱: DB-5MS(30mm×0.25mm×0.25μm, 美国安捷伦公司)。氦气载气, 1.0 mL/min。温度程序: 70 °C 起始, 15 °C/min 升至 270 °C, 保持 3 min。进样口温度: 250 °C, 辅助室温度: 280 °C。进样方式: 不分流进样, 0.75 min 开阀。进样量: 1 μL。溶剂延迟时间: 3 min。监测方式: 确证方法(SIM)和杂质结构鉴定和解析(SCAN)。SIM 模式监测离子(m/z): 110、141、156。定量离子(m/z): 156。

SCAN 模式扫描范围(m/z): 50~500, 确证方法定量: 外标单点法。标准溶液: 氧化乐果标准溶液 0.5、1.0 μg/mL。样品溶液: 25 g 西兰花样品, 提取浓缩后, 定容 5 mL(乙酸乙酯)。

2.4 试样提取

将西兰花样品粉碎, 称取 5 g 于 50 mL 具塞离心管中, 加入 20 mL 乙腈, 均质 2 min, 加入无水硫酸钠 5 g, 剧烈震荡 1 min。移取上层溶液至 50 mL 鸡心瓶, 旋蒸蒸发至干, 用 1 mL 正己烷定容, 装瓶上机。

3 结果与讨论

3.1 氧化乐果在不同极性固定相的保留行为

分别经 HP-1、DB-5、DB-1701 细柱分离分析后, 氧化乐果标准样品色谱图见图 1。氧化乐果 $\text{Log } P = -0.74$, 属于强极性化合物, 由于其极性在 HP-1、DB-5、DB-1701 根非极性、弱极性、中等极性的色谱柱上表现出不同的保留。其保留时间分别为 8.420 min、9.309 min、11.614 min, 从理论上可以解释为: 由于 HP-1 属于非极性, 与极性的氧化乐果作用力最小, 所以其保留能力最弱, 出峰最早; DB-5 由于稍微具有

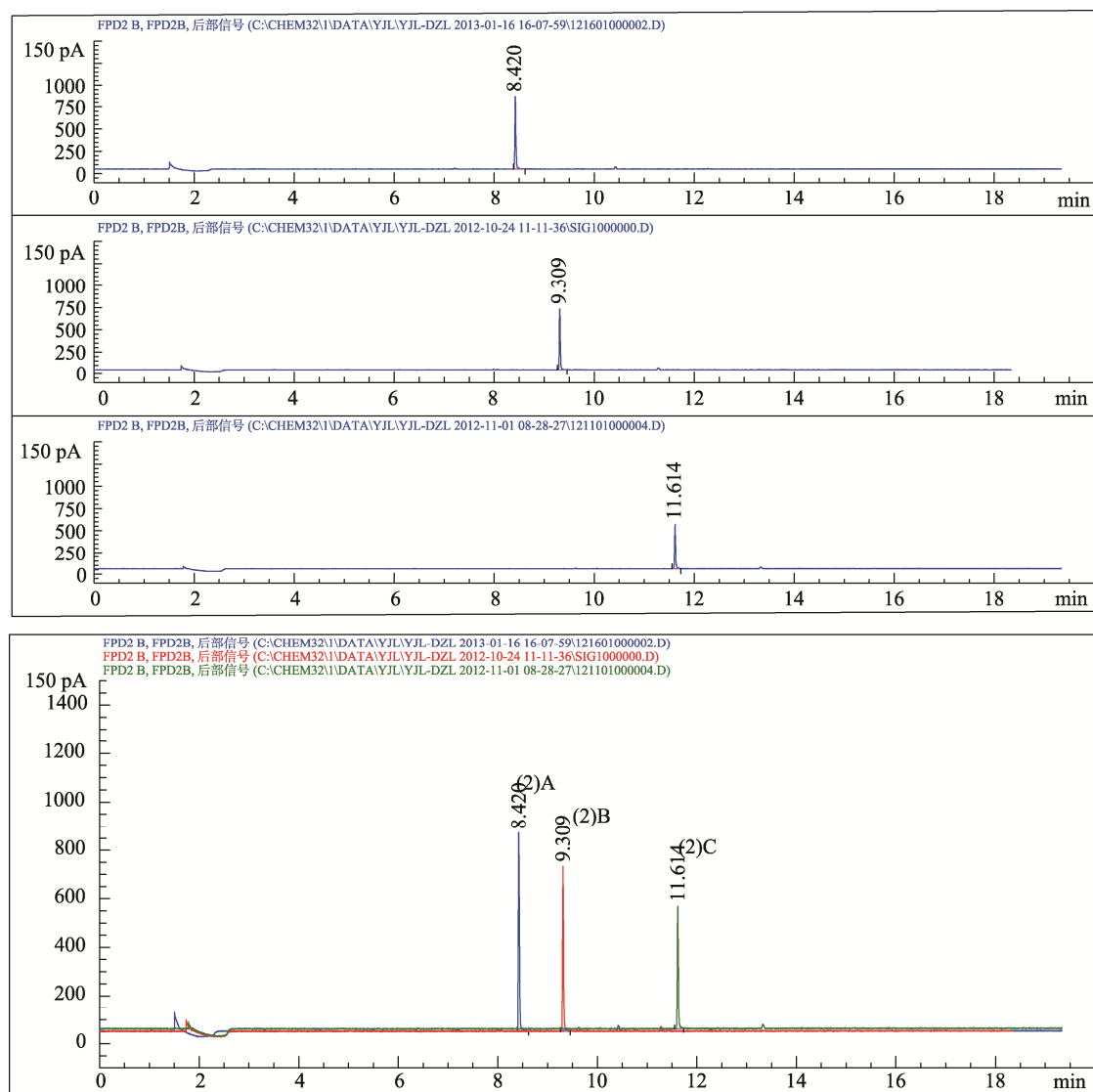


图1 氧化乐果 0.2 μg/mL 不同极性色谱柱分开(1)与合并(2)比较色谱图

Fig. 1 Chromatogram merger omethoate including 0.2 g/mL different polarity chromatographic column separation (1) and (2)
A: HP-1; B: DB-5; C: DB-1701(250)

极性, 其与氧化乐果的作用力比 HP-1 稍强, 所以其保留能力也稍强; DB-1701 属于中等极性, 其与氧化乐果的作用力比前两个要大很多, 所以其保留能力更大。单从氧化乐果标准样品的保留能力判断, DB-1701 柱最为理想; 但当有杂质干扰时, 情况相对复杂, 必须考虑氧化乐果与杂质在不同色谱柱的分离能力。

3.2 西兰花中氧化乐果疑似阳性样品 GC-FPD 法确证

利用 GC-FPD 连接 DB-1701(0.53 mm)检测西兰花样品, 由图 2 可见, 西兰花样品中与氧化乐果相同

的保留时间有峰出现, 疑似阳性, 但仅凭 GC 一次性检测不能确证氧化乐果呈阳性。为排除干扰, 其他条件不变, 更换色谱柱 HP-1、DB-5、DB-1701(0.25 mm)连接 GC 检测疑似样品。当用色谱柱 HP-1(0.25 mm)检测时, 杂质峰与标品峰出峰位置几乎重合, 不能判断(图 3)。用色谱柱 DB-5(0.25 mm)检测, 杂质峰与标品峰出峰位置不重合(图 4), 用 DB-1701(0.25 mm)检测时, 杂质峰与标品峰出峰位置稍有重叠, 不易判断(图 5)。再联合 GC-MS 来进一步定性, 综合 4 个方法确证得出结论: 西兰花中氧化乐果残留量为假阳性样品。

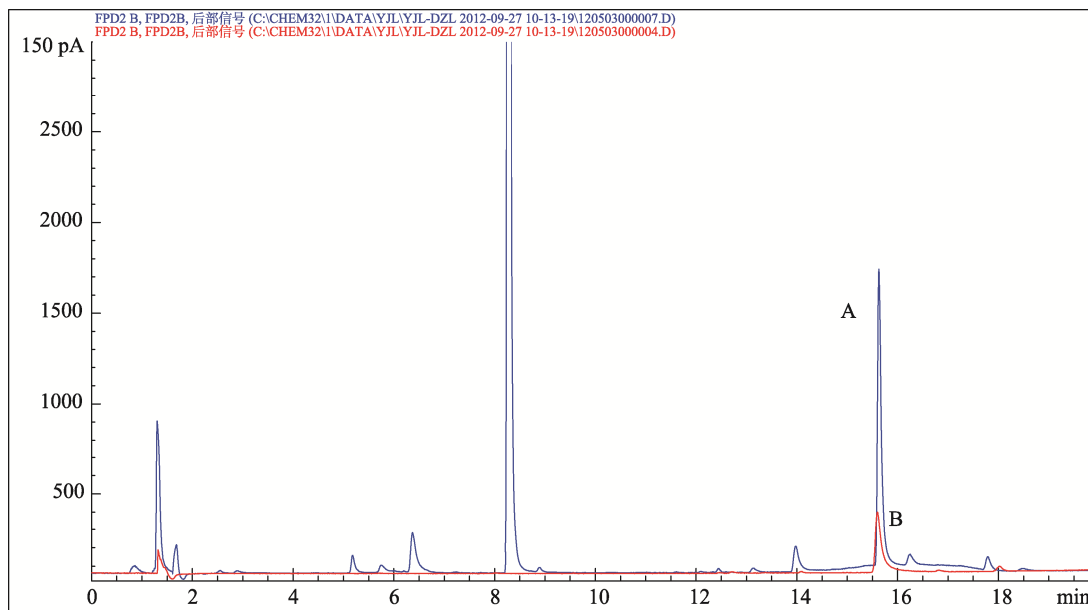


图 2 色谱柱 DB-1701(530)检测西兰花(A)和氧化乐果标准品(B)合并图谱

Fig. 2 Chromatographic column DB-1701 (530) test broccoli (A) and omethoate standard (B) combine the map

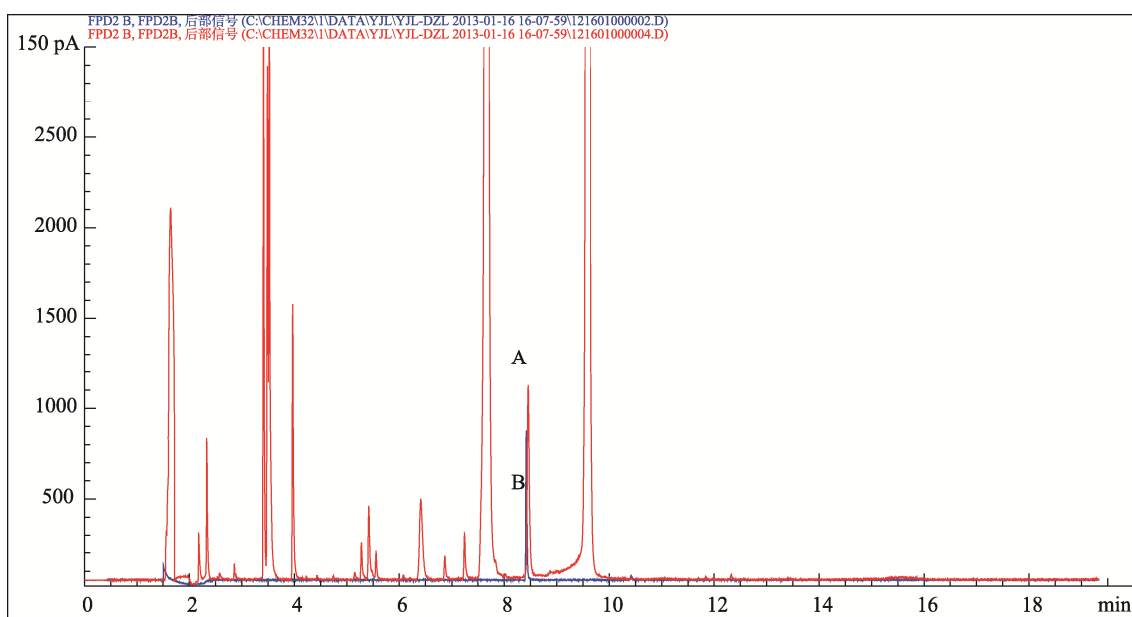


图 3 色谱柱 HP-1(250)检测西兰花(A)和氧化乐果标准品(B)合并图谱

Fig. 3 Chromatographic column HP-1(250) test broccoli (A) and omethoate standard (B) combine the map

3.3 西兰花中干扰物质 GC-MS-SCAN 法的结构鉴定

经 GC-MS 结构鉴定干扰物质为 3 种物质的混合物: 萝卜硫素(sulforaphane, SF, 1-异硫氰基-4-甲亚磺酰基丁烷)、萝卜硫腈(sulforaphane nitrile, SF nitrile,) 和腺嘌呤。因为 1701 色谱柱(0.25 mm)的固定液为

(14%-氰丙基-苯基)-甲基聚硅氧烷, 对萝卜硫素和腺嘌呤产生不可逆吸附, 导致形成不规则馒头状色谱峰(为萝卜硫素和腺嘌呤混合物), 而萝卜硫腈正好在此不规则馒头状色谱峰上面, 并和氧化乐果保留时间勉强分离。其上面各物质出峰位置分别为: 萝卜硫腈为 11.673 min, 氧化乐果为 11.627 min。萝卜

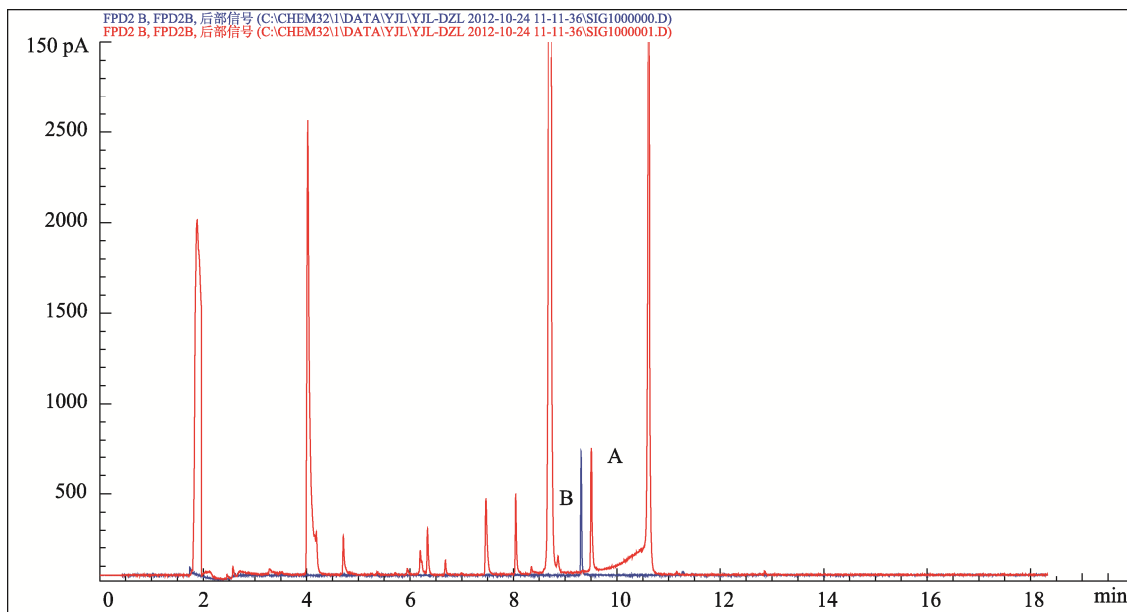


图 4 色谱柱 DB-5(250)检测西兰花(A)和氧化乐果标准品(B)合并图谱

Fig. 4 Chromatographic column DB-5(250) test broccoli (A) and omethoate standard (B) combine the map

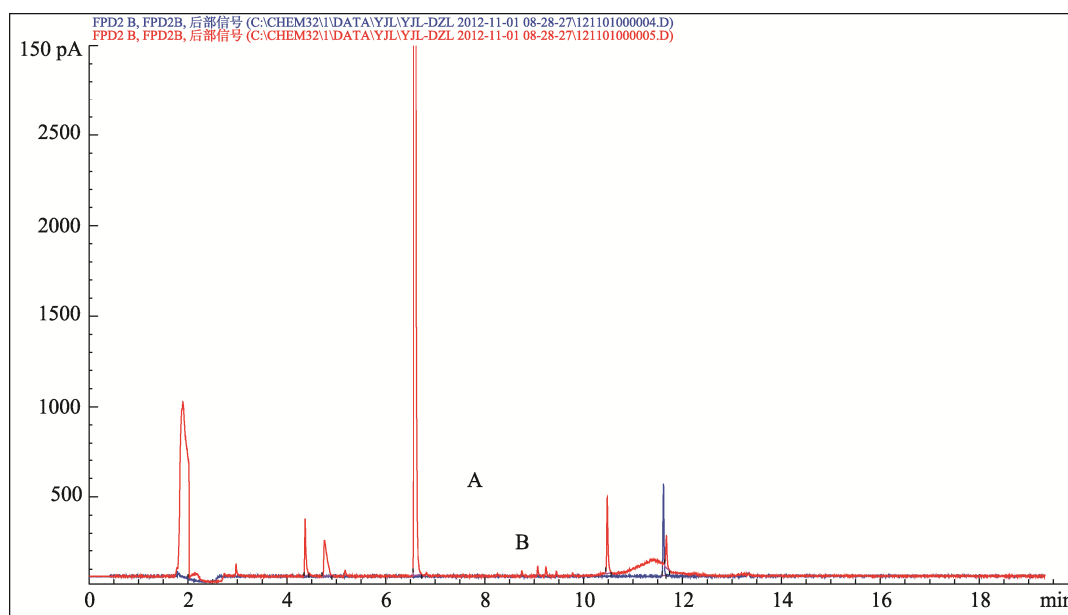


图 5 色谱柱 DB-1701(250)检测西兰花(A)和氧化乐果标准品(B)合并图谱

Fig. 5 Chromatographic column DB-1701(250) test broccoli (A) and omethoate standard (B) combine the map

硫素和腺嘌呤为不规则馒头状色谱峰无法得到保留时间和峰面积, 位置在 11.673 min 色谱峰前伸部分, 而改用 DB-5(0.25 mm)后, 各色谱峰峰形明显改善, 萝卜硫腈峰保留时间为 8.7 min, 萝卜硫素保留时间为 10.671 min, 而腺嘌呤仍为不规则馒头状色谱峰, 保留时间在 10.671 min 色谱峰前伸部分, 氧化乐果保留时间为 9.30 min。所以 DB-5(0.25 mm)完全满足氧

化乐果和其他 3 个干扰物的测定, 而 1701 色谱柱 (0.53 mm)不能满足氧化乐果和其他 3 种干扰物质的分离, 氧化乐果和其他 3 种干扰物质完全包裹在一起出峰。1701 色谱柱(0.25 mm)可基本满足要求, 但效果不理想。HP-1(0.25 mm)能使 3 种干扰物质和氧化乐果峰形良好, 但氧化乐果和 3 种物质之外的第 4 个干扰物质分离效果不佳, 导致无法准确定量, 详见图 6。

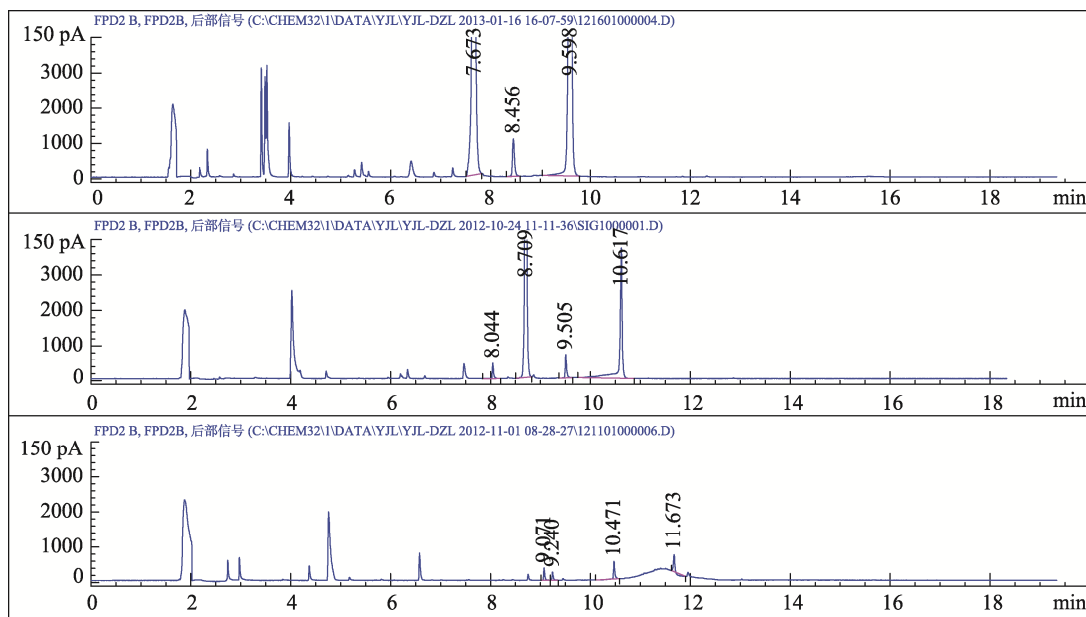


图 6 西兰花空白样品不同极性色谱柱比较色谱图

Fig. 6 Column chromatogram broccoli blank samples of different polarity

A: HP-1; B: DB-5; C: DB-1701

4 结 论

本文通过比较 3 种不同规格的色谱柱(HP-1、DB-5、DB-1701)对于氧化乐果和杂质干扰物的分离,建立了 GC-FPD 检测西兰花中氧化乐果残留量的确证方法,采用 GC-MS-SCAN 方法对干扰物质进行结构鉴定,同时也建立了 GC-MS-SIM 的确证方法。两种确证方法都能有效地对西兰花中疑似阳性样品进行确证和定量分析,简单、快速、可靠,为解决西兰花中干扰物的问题提供了更为理想的手段,并可在日常大量西兰花中氧化乐果残留检测方面进行有效应用。

参考文献

- [1] 史立新, 王军明, 马红, 等. 有机磷类农药气相色谱分析[J]. 中国公共卫生, 2005, 21(6): 687-687.
Shi LX, Wang JM, Ma H, *et al.* Organophosphorus pesticides residues detected by GC [J]. China J Public Health, 2005, 21(6): 687-687.
- [2] 王琦. 果蔬农药残留降解技术研究[D]. 保定: 河北农业大学, 2006.
Wang Q. Fruit and vegetable pesticide residues technology research [D]. Baoding: Hebei Agricultural University, 2006.
- [3] 鞠芳芳. 气相色谱法及气/质联用法检测动物组织中氧化乐果

的研究[D]. 沈阳:中国医科大学, 2010.

- Ju FF. Research of omethoate in animal tissue detected by gas chromatography and GC/MS [D]. Shenyang: China Medical University, 2010.
- [4] 康文静, 刘照清, 李伶, 等. 快速检测法检测 5 种有机磷类农药在青菜中残留量初探[J]. 监测分析, 2005, 21(6): 55-56
Kang WJ, Liu ZQ, Li L, *et al.* Preliminary rapid detection method to detect residues of five kinds of organophosphorus pesticides in green cabbage [J]. Monit Anal, 2005, 21(6): 55-56
- [5] 赵真, 高虹. 废水中有机磷农药—乐果, 氧化乐果的气相色谱定量分析方法的研究[J]. 中国环境监测, 2007, 1: 54.
Zhao Z, Gao H. Rogor research quantitative analysis of omethoate, wastewater organophosphorus pesticides by gas chromatography method [J]. China Environ Monit, 2007, 1: 54.
- [6] 关一亮. 薄层色谱法检测氧化乐果[J]. 刑事技术, 2001, 5: 11.
Guan YL. The Research of omethoate by Thin-layer chromatography [J]. Crim Tech, 2001, 5: 11.
- [7] 杨晓玲, 李双庆. 反相液相色谱法检测生物试样中的氧化乐果[J]. 刑事技术, 2004, 6: 11.
Yang XL, Li SQ. Reversed-phase liquid chromatography to detect biological sample omethoate [J]. Crim Tech, 2004, 6: 11.
- [8] 纪淑娟, 赵丽丽. 快速检测苹果类蔬菜有机磷农药残留结果分析[J]. 沈阳农业大学学报, 2002, 33(1): 14-16.
Ji SJ, Zhao LL. Rapid detection of apple fruit organophosphorus pesticide residues in vegetables analysis [J]. J Shenyang Agr Univ, 2002, 33(1): 14-16.

- [9] 胡朝阳. GPC 净化气相色谱法测定大豆油中的乐果[J]. 广州化工, 2012, 40(10): 126-127.
Hu CY. Treatment of soybean oil with Dimethoate gas chromatography GPC purification [J]. Guangzhou Chem Ind, 2012, 40(10): 126-127.
- [10] 姜莉, 孙慧艳, 张莹, 等. 沈阳市常见蔬菜中有机磷农药残留分析及安全性评价[J]. 分析测试学报, 2010, 60(10): 106-107.
Jiang L, Sun HY, Zhang Y, *et al.* Shenyang common organophosphorus pesticide residues in vegetables analysis and safety evaluation [J]. Instrum Anal, 2010, 20(10): 106-107.
- [11] 谷日旭, 王彩云, 秦长睿. 毛细管气相色谱法测定食品中 11 种有机磷农药[J]. 中国卫生检验杂志, 2003, 13(4): 447-447.
Gu RX, Wang CY, Qin CR. Determination of 11 kinds of organophosphorus pesticides by capillary gas chromatography [J]. Chin J Health Inspect, 2003, 13(4): 447-447
- [12] 潘灿平, 王丽敏, 江树人, 等. 蔬菜中农药多残留快速检测技术的开发研究及其应用[C]. 第二届全国绿色环保农药新产品交流会论文集, 2003.

Pan CP, Wang LM, Jiang SR. Rapid detection technology development and its application of pesticide residues in vegetables [C]. Second National Seminar Proceedings Green Pesticide New Products, 2003.

(责任编辑: 赵静)

作者简介



董振霖, 高级工程师, 主要研究方向为农药残留分析。

E-mail: dzl1974@sina.com



曹际娟, 教授, 主要研究方向为食品安全检测。

E-mail: cjj0909@163.com