

气相色谱法同时测定小麦粉中 35 种 有机磷农药残留量

高 丁, 陈士恒, 章 晴, 杨永坛*

(中粮营养健康研究院, 北京市营养健康与食品安全重点实验室, 北京 102209)

摘要: **目的** 建立气相色谱-火焰光度检测器法(GC-FPD)测定小麦粉中有机磷残留量的方法。**方法** 小麦粉样品经过乙腈超声辅助提取后, 加入氯化钠盐析, 取上清液过膜, 利用气相色谱火焰光度检测器进行检测。**结果** 35种有机磷类农药在 0.010~0.200 mg/L 浓度范围内呈现良好线性关系, $R^2 > 0.99$; 在 0.200、0.100、0.040、0.020、0.010 mg/L 的添加水平, 小麦粉中 35种有机磷类农药平均回收率均在 70.80%~115.43%之间, 各目标分析物的相对标准偏差(RSD)均小于 10%。检出限是 0.004~0.010 mg/kg。**结论** 该方法一次性可检测 35种有机磷类农药, 前处理操作快速简单、效率高、重复性好且灵敏度高。

关键词: 有机磷农药; 气相色谱法; 小麦粉

Simultaneous determination of 35 organophosphorus pesticide residues in wheat flour by gas chromatography

GAO Ding, CHEN Shi-Heng, ZHANG Qing, YANG Yong-Tan*

(Beijing Key Laboratory of Nutrition Health and Food Safety, COFCO Nutrition & Health Research Institute, Beijing 102209, China)

ABSTRACT: Objective To develop a method for the simultaneous determination of organic phosphorus pesticide residues in wheat flour by gas chromatography with flame photometric detector (GC-FPD). **Methods** Wheat flour samples were extracted with acetonitrile assisted by ultra-sonic, and the extracts were filtered by microporous membrane, then they were detected by GC-FPD. **Results** The method showed a good linearity in the range of 0.010~0.200 mg/L for 35 organophosphorus pesticides with $R^2 > 0.99$. The recoveries were 70.80%~115.43% at 3 spiked levels of 0.200, 0.100, 0.040, 0.020, and 0.010 mg/L for 35 organophosphorus pesticide, and the relative standard deviations (RSDs) were less than 10%. The limits of detections were in the range of 0.004~0.010 mg/kg. **Conclusion** This method is suitable for fast, simple, and high sensitive detection of 35 organophosphorus pesticide residues simultaneously.

KEY WORDS: organophosphorus pesticides; gas chromatography; wheat flour

1 引言

小麦是小麦系植物的统称, 农民为保证产量,

往往喷洒一定量的农药, 除了在生产环境中使用农药外, 还在收获后储藏环境中使用谷物保护剂来杀虫、防霉。目前, 谷物储藏环境中常用的谷物保护剂

*通讯作者: 杨永坛, 高级工程师, 主要研究方向为食品质量与安全。E-mail: yangyongtan@cofco.com

*Corresponding author: YANG Yong-Tan, Senior Engineer, Food Quality & Safety Center, COFCO Nutrition & Health Research Institute, No.4 Road, Future Science and Technology Park South, Beiqijia, Changping, Beijing 102209, China. E-mail: yangyongtan@cofco.com

主要有马拉硫磷、杀螟硫磷、甲基毒死蜱等多种有机磷农药^[1-3]。谷物保护剂的使用, 带给人们巨大经济效益和社会效益的同时, 也增加了谷物加工后产品(小麦粉、大米、玉米粉等)中农药残留的风险, 对人体健康构成潜在危害。小麦粉作为一种主要的谷物加工产品在人们日常膳食结构中占有重要的地位。因此, 建立小麦粉中多农药残留快速准确的分析方法对农业生产及粮食储藏过程中农药的科学使用和食品质量安全具有重要意义。

目前对于小麦粉中有机磷农药残留测定的仪器方法包括气相色谱法^[4-9]、气相色谱-质谱法^[10,11]和液相色谱-串联质谱法^[12,13], 其中气相色谱法还包括火焰光度检测器法和氮磷检测器法, 气相色谱-火焰光度检测器法以其选择性高, 耐用性强和低成本而成为有机磷类农药的首选。目前对于小麦粉中有机磷农药测定的常用前处理方法有: 固相微萃取^[14], 加速溶剂萃取^[15]。这些前处理方法或采用较为复杂的装置, 或操作步骤复杂, 较难在基层实现推广应用。

本方法将小麦粉样品经过乙腈超声辅助提取后, 盐析, 上清液过膜, 最后使用气相色谱火焰光度检测器检测。本实验前处理方法简单高效, 成本较低, 样品处理速度快, 同时优选 DB-5ms 作为色谱分离固定相, 一次性可检测 35 种有机磷农药, 扩展了有机磷类农药的检测范围, 适合于在基层企业推广应用。

2 材料与方 法

2.1 仪器与试剂

7890A 气相色谱仪(配 FPD 检测器, 美国安捷伦公司仪器); BSA 224S-CW 型电子天平(德国赛多利斯); SB-3200 DTDN 型超声波清洗机(宁波新芝生物科技股份有限公司); QL-902 型旋涡混合器(海门其林贝尔仪器制造有限公司); Allegra 64R 型高速冷冻台式离心机(美国贝克曼公司)。

农药标准品: 甲胺磷、敌敌畏、乙酰甲胺磷、氧乐果、内吸磷、灭线磷、治螟磷、久效磷、甲拌磷、乐果、特丁硫磷、地虫硫磷、磷铵、甲基毒死蜱、甲基对硫磷、杀螟硫磷、对氧磷、马拉硫磷、毒死蜱、倍硫磷、对硫磷、水胺硫磷、甲基异柳磷、硫环磷、杀扑磷、苯线磷、丙溴磷、乙硫磷、三唑磷、氯唑磷、亚胺硫磷、伏杀磷、蝇毒磷、谷硫磷、乙基谷硫磷(德国 Dr. Ehrenstorfer GmbH 公司)。乙腈、正己烷、丙

酮(色谱纯, 美国 Fisher 公司)。

2.2 实验方法

2.2.1 标准溶液的配制

分别称取有机磷农药标准品 0.01 g(精确至 0.0001 g)合标准溶液: 分别移取标准储备液 100 μ L 至 10 mL 容量瓶中, 丙酮定容, 配成 10 mg/L 混合标准溶液。基质混合标准工作溶液: 用空白样品提取液配成不同浓度的基质匹配标准工作溶液, 用于作标准工作曲线。基质混合标准工作溶液应现用现配。空白样品为有机磷类农药无检出的小麦粉样品。

2.2.2 样品前处理

称取小麦粉粉末样品 5 g(精确至 0.01 g)于 50 mL 聚四氟乙烯离心管中, 加入 10 mL 乙腈提取溶液同时加入 3 g 氯化钠充分震荡 1 min, 将离心管在超声波发生器中超声提取 20 min(提取过程中, 超声波发生器中需放入冰袋, 防止水温上升)。将离心管放入离心机中(6000 r/min、5 min)取上清液 1 mL。经微孔滤膜(0.45 μ m)过滤后上机分析。

2.2.3 仪器条件

色谱柱: DB-5ms(30 m \times 0.25 mm, 0.25 μ m, 美国 Agilent 公司)。程序升温: 50 $^{\circ}$ C 保持 1 min, 然后以 8 $^{\circ}$ C/min 升温至 220 $^{\circ}$ C, 以 30 $^{\circ}$ C/min 升温至 300 $^{\circ}$ C 保持 10 min; 载气: 高纯氮气, 恒流模式, 流速为 1.0 mL/min; H₂ 流量: 75 mL/min, 空气流量: 100 mL/min 进样口温度: 220 $^{\circ}$ C; 进样方式: 脉冲不分流进样, 进样量: 2 μ L; 检测器温度 250 $^{\circ}$ C。

3 结果和讨论

3.1 色谱柱的选择

实验中考察的 35 种有机磷农药极性差别较大, 如甲胺磷、乙酰甲胺磷、久效磷和氧乐果等极性较强, 而苯线磷和伏杀硫磷等极性较弱, 因此实验中考察 DB-1、DB-35ms 和 DB-5ms 三种毛细管色谱柱, 规格均为 30 m \times 0.25 mm, 0.25 μ m。实验结果表明, DB-1 对甲胺磷、乙酰甲胺磷、久效磷和氧乐果的峰形容易拖尾; DB-35ms 无法分离磷铵与甲基毒死蜱, 马拉硫磷与毒死蜱以及丙溴磷与杀扑磷; DB-5ms 则能实现一次进样分离 35 种有机磷类农药, 并具有更好的耐高温性能, 可在检测时通过设置更高的柱箱温度净化色谱柱, 降低基线升高对下一次分析造成的干扰。因此本实验选择 DB-5ms 作为色谱柱。

在 2.2 条件下, 35 种有机磷农药取得良好分离效果(图 1)。使用小麦粉空白样品提取溶液作为基质匹配标准溶液的稀释液, 将 10 mg/L 的混合标准液逐级稀释至浓度为 0.200、0.100、0.040、0.020、0.010 mg/L 的基质匹配混合标准溶液进行测定, 以质量浓度对相应的峰面积绘制标准曲线, 求得线性方程及相关系数。线性关系良好, 相关系数 R^2 大于 0.99。以 $S/N=3$ 计算方法中各种有机磷农药的检出限(LOD)详见表 1。

3.2 回收率和精密度实验

为考察方法的准确度, 按照 2.2 所确定的方法, 在相应线性范围内进行三个水平的添加回收率试验, 每个水平做 4 个平行样品测定, 小麦粉中 35 种有机磷平均回收率均在 70.80%~115.43%之间, 各目标分析物的相对标准偏差(RSD)均小于 10%, 详见表 2。

3.3 实际样品分析

为验证方法的可行性, 应用实验建立的方法对

市场上购买的 4 个小麦粉样品进行上述 35 种有机磷农药的测定。为确保检测结果的准确性, 使用标准方法进行上述 4 个小麦粉样品中有机磷农药残留量的测定。结果表明, 所建立方法的检测结果与标准方法 GB/T 5009. 20-2003 食品中有机磷农药残留量的测定的检测结果完全一致, 4 个小麦粉样品中 35 种有机磷农药均无检出。

4 结论

建立气相色谱-火焰光度检测器法(GC-FPD)测定小麦粉中 35 有机磷的残留量, 在 0.200、0.100、0.040、0.020、0.010 mg/L 的添加水平上, 小麦粉中 35 种有机磷农药的平均回收率均在 70.80%~115.43%之间, 各目标分析物的相对标准偏差(RSD)均小于 10%, 检出限是 0.004~0.010 mg/kg, 能够满足快速检测的需求, 成本较低, 样品处理速度快。

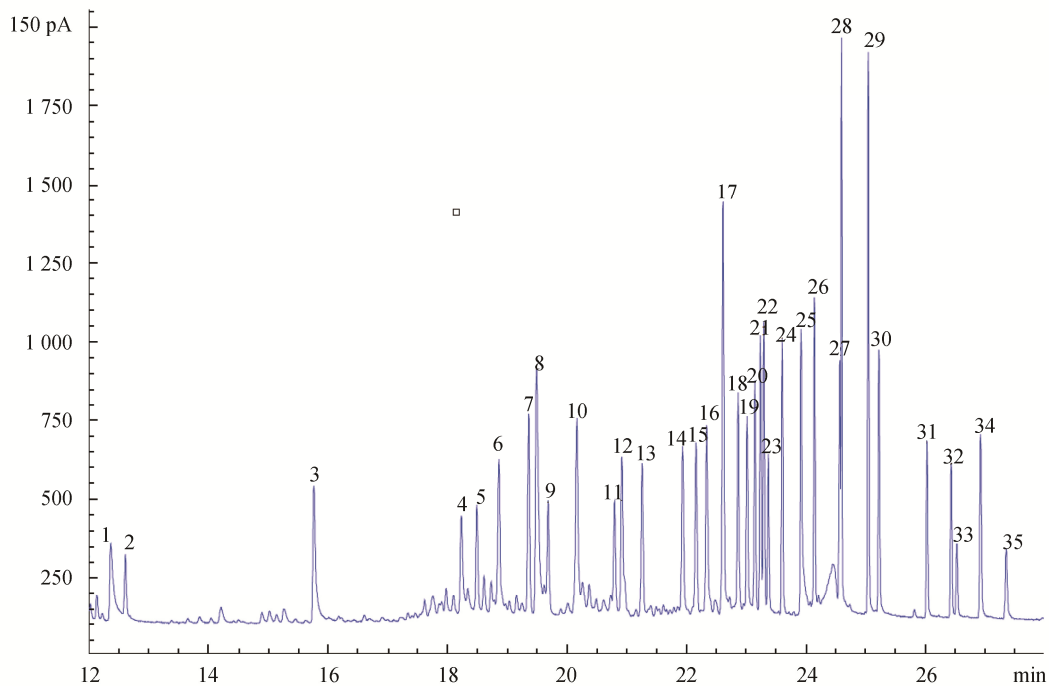


图 1 35 种有机磷农药基质匹配标准溶液(0.4 mg/kg)的色谱图

Fig. 1 Chromatogram of 35 organophosphorus pesticides standard solution

(从左往右依次: 1 甲胺磷; 2 敌敌畏; 3 乙酰甲胺磷; 4 氧乐果; 5 内吸磷; 6 灭线磷; 7 治螟磷; 8 久效磷; 9 甲拌磷; 10 乐果; 11 特丁硫磷; 12 地虫硫磷; 13 氯唑磷; 14 磷胺; 15 甲基毒死蜱; 16 甲基对硫磷; 17 杀螟硫磷; 18 对氧磷; 19 马拉硫磷 20 毒死蜱; 21 倍硫磷; 22 对硫磷; 23 水胺硫磷; 24 甲基异柳磷; 25 硫环磷; 26 杀扑磷; 27 苯线磷; 28 丙溴磷 29 乙硫磷; 30 三唑磷; 31 亚胺硫磷; 32 伏杀硫磷; 33 谷硫磷; 34 乙基谷硫磷; 、35 蝇毒磷)

表 1 35 种有机磷农药的线性范围、相关系数、检出限

Table 1 The linear range, correlation coefficient, and detection limit of 35 organophosphorus pesticides

序号	农药名称	线性方程	R^2	LOD (mg/kg)	LOQ (mg/kg)
1	甲胺磷	$Y=11.64X+15.65$	0.9958	0.010	0.033
2	敌敌畏	$Y=6.61X+3.11$	0.9956	0.005	0.0165
3	乙酰甲胺磷	$Y=15.89X+17.76$	0.9976	0.005	0.0165
4	氧乐果	$Y=12.38X-3.01$	0.9999	0.005	0.0165
5	内吸磷	$Y=9.42X+13.60$	0.9948	0.005	0.0165
6	灭线磷	$Y=13.57X+24.54$	0.9900	0.005	0.0165
7	治螟磷	$Y=17.07X+9.27$	0.9972	0.005	0.0165
8	久效磷	$Y=35.62X-43.13$	0.9987	0.005	0.0165
9	甲拌磷	$Y=13.48X-33.01$	0.9967	0.004	0.0132
10	乐果	$Y=20.91X+20.31$	0.9996	0.005	0.0165
11	特丁硫磷	$Y=13.15X-18.68$	0.9986	0.005	0.0165
12	地虫硫磷	$Y=18.07X-23.43$	0.9963	0.005	0.0165
13	氯唑磷	$Y=13.15X-3.17$	0.9990	0.005	0.0165
14	磷胺	$Y=18.07X-2.33$	0.9994	0.005	0.0165
15	甲基毒死蜱	$Y=16.06X-12.48$	0.9996	0.005	0.0165
16	甲基对硫磷	$Y=18.39X-12.68$	0.9997	0.004	0.0132
17	杀螟硫磷	$Y=33.71X-23.34$	0.9993	0.005	0.0165
18	对氧磷	$Y=16.84X+8.03$	0.9984	0.005	0.0165
19	马拉硫磷	$Y=15.52X+57.41$	0.9973	0.005	0.0165
20	毒死蜱	$Y=16.18X+12.31$	0.9990	0.005	0.0165
21	倍硫磷	$Y=17.42X+5.91$	0.9996	0.005	0.0165
22	对硫磷	$Y=18.43X+2.06$	0.9998	0.005	0.0165
23	水胺硫磷	$Y=12.42X+2.00$	0.9994	0.005	0.0165
24	甲基异柳磷	$Y=17.45X+11.39$	0.9995	0.005	0.0165
25	硫环磷	$Y=24.43X+39.96$	0.9988	0.005	0.0165
26	杀扑磷	$Y=18.72X+43.45$	0.9990	0.005	0.0165
27	苯线磷	$Y=12.89X+65.73$	0.9966	0.005	0.0165
28	丙溴磷	$Y=22.38X+109.29$	0.9963	0.005	0.0165
29	乙硫磷	$Y=29.52X+53.68$	0.9990	0.005	0.0165
30	三唑磷	$Y=17.43X+72.97$	0.9960	0.010	0.033
31	亚胺硫磷	$Y=11.80X+23.13$	0.9983	0.005	0.0165
32	伏杀硫磷	$Y=10.07X+29.87$	0.9979	0.005	0.0165
33	谷硫磷	$Y=6.70X+9.84$	0.9986	0.010	0.033
34	乙基谷硫磷	$Y=14.23X+30.15$	0.9975	0.005	0.0165
35	蝇毒磷	$Y=7.12X+19.28$	0.9954	0.010	0.033

表 2 小麦粉中 35 种有机磷平均回收率和相对标准偏差(RSD) ($n=5$)
 Table 2 The average recoveries and relative standard deviations of 35 organophosphorus pesticides ($n=5$)

序号	农药名称	添加浓度 0.20 mg/kg		添加浓度 0.10 mg/kg		添加浓度 0.04 mg/kg	
		平均回收率	RSD%	平均回收率	RSD%	平均回收率	RSD%
1	甲胺磷	111.13	3.54	104.65	7.91	99.57	9.67
2	敌敌畏	104.67	5.60	100.98	9.90	89.75	2.90
3	乙酰甲胺磷	93.12	9.63	100.72	7.58	88.05	6.32
4	氧乐果	101.57	7.23	80.69	5.32	87.26	4.31
5	内吸磷	105.65	9.75	100.36	2.80	95.95	8.04
6	灭线磷	100.82	7.56	99.38	8.82	92.17	8.62
7	治螟磷	113.00	7.65	106.38	7.79	93.14	4.11
8	久效磷	100.76	9.02	109.59	8.15	99.49	8.63
9	甲拌磷	111.58	4.63	103.04	8.39	83.77	8.71
10	乐果	103.03	6.69	106.70	7.27	94.52	3.70
11	特丁硫磷	110.88	8.36	97.94	9.45	87.69	5.33
12	地虫硫磷	106.38	8.28	99.26	6.84	82.31	8.17
13	氯唑磷	102.17	6.70	101.06	4.32	95.63	3.85
14	磷胺	101.47	6.22	100.95	2.32	79.72	9.15
15	甲基毒死蜱	109.80	7.63	98.26	8.89	74.71	9.81
16	甲基对硫磷	96.30	8.55	111.33	7.83	80.41	8.47
17	杀螟硫磷	93.99	4.87	101.24	5.26	85.21	2.26
18	对氧磷	100.20	7.52	108.18	3.43	71.19	8.51
19	马拉硫磷	99.89	9.45	105.77	7.61	91.85	9.68
20	毒死蜱	105.72	1.87	108.40	9.86	76.14	9.87
21	倍硫磷	90.88	7.64	103.96	5.87	70.80	8.92
22	对硫磷	93.85	9.88	108.94	8.64	74.05	8.86
23	水胺硫磷	87.37	3.68	115.29	9.61	79.54	3.41
24	甲基异柳磷	99.94	8.12	108.87	8.83	80.23	5.34
25	硫环磷	94.89	5.00	100.73	6.17	75.89	7.95
26	杀扑磷	95.03	7.80	99.57	7.81	78.23	0.69
27	苯线磷	88.69	3.61	111.33	9.79	95.92	9.03
28	丙溴磷	98.56	3.43	103.68	8.36	82.24	5.59
29	乙硫磷	112.24	2.05	107.71	5.03	87.86	9.31
30	三唑磷	97.92	7.15	115.43	8.88	83.52	7.85
31	亚胺硫磷	82.08	8.76	94.27	3.75	76.51	7.11
32	伏杀硫磷	83.61	4.38	104.81	8.95	85.95	8.08
33	谷硫磷	80.13	6.16	86.81	6.71	92.45	2.33
34	乙基谷硫磷	88.88	5.38	100.98	8.61	76.97	5.06
35	蝇毒磷	97.55	2.72	105.56	8.91	98.41	5.96

参考文献

- [1] 白旭光, 唐利红. 常用谷物保护剂在储粮中的残留与粮食卫生安全[J]. 粮油储藏, 2008, (2): 30-32
Bai XG, Tang LH. The residue of common protective agent in stored grain and food hygiene and safety [J]. Grains Oils storage, 2008, (2): 30-32
- [2] Thomas KP, Pinniger DB, Wilkin DR. An assessment of chlorpyrifos-methyl, etrimfos, fenitrothion and pirimiphos-methyl as grain protectants [J]. Pest Sci, 1987, 21: 57-72
- [3] Collins PJ, Nayak MK, Kopittke R. Residual efficacy of four organophosphate insecticides on concrete and galvanized steel surfaces against three liposcelidpsocid species infesting stored products [J]. J Econ Entomol, 2000, 93(4): 1357-1363
- [4] 应兴华, 徐霞, 陈能, 等. 小麦粉中 12 种有机磷农药残留量测定的研究[J]. 中国粮油学报, 2007, 22(3): 158-160
Ying XH, Xu X, Chen N, *et al.* Determination of multi-residue of twelve organophosphate pesticides in wheat flour [J]. J Chin Cereals Oils Assoc, 2007, 22(3): 158-160
- [5] 刘爱洁, 尹笃林. 气相色谱法测定大米中多种有机磷农药残留量[J]. 湖南师范大学自然科学学报, 2001, 24(1): 50-51
Liu AJ, Yin DL. Determination of the residua of various organic phosphorous pesticides by gas chromatography [J]. J Nat Sci Hunan Normal Univ, 2001, 24(1): 50-51
- [6] 张晓波. 气相色谱法快速测定小麦粉中多种农药残留[J]. 黑龙江农业科学, 2005, (4): 14-16
Zhang XB. Fast testing method of residual pesticides in wheat powder by gas chromatography [J]. Heilongjiang Agric Sci, 2005, (4):14-16
- [7] 刘辉, 汪霞, 何艺梅, 等. 水果、蔬菜中 11 种有机磷农药残留的快速测定[J]. 中国卫生检验杂志, 2009, 19(10): 2314-2316.
Liu H, Wang X, He YM, *et al.* Rapid determination of 11 kinds of organophosphorus pesticide residues in fruits and vegetables [J]. Chin J Health Lab Technol, 2009, 19(10): 2314-2316
- [8] Sana B, Yaghoub A, Mansoor A, *et al.* Dispersive liquid-liquid micro extraction combined with gas chromatography-flame photometric detection very simple, rapid and sensitive method for the determination of organophosphorus pesticides in water [J]. J Chromatogr A, 2006, 1123:1-9
- [9] GB/T 5009.20-2003 食品中有机磷农药残留量的测定[S].
GB/T 5009.20-2003 Determination of organophosphorus pesticide residues in foods [S].
- [10] 陈建虎, 张维冰. 超声辅助固相萃取/离子阱气相色谱-质谱联用测定蔬菜中有机磷农药残留[J]. 分析科学学报, 2011, 27(6): 731-734.
Chen JH, Zhang WB. Determination of organophosphorus pesticide residues in vegetable by ultrasound-assisted extraction and solid-phase extraction/ion trap gas chromatography mass spectrometry [J]. J Anal Sci, 2011, 27(6): 731-734
- [11] Gebreegzi YT, Foster GD, Khan SU. Simultaneous determination of carbaryl, malathion, fenitrothion, and diazinon residues in sesame seeds [J]. J Agric Food Chem, 2000, 48(1): 5165-5168
- [12] 刘永, 唐英斐, 宋金凤, 等. 固相萃取-液相色谱-串联质谱法测定蔬菜中 4 种有机磷农药及其代谢产物[J]. 色谱, 2014, 32(2): 139-144
Liu Y, Tang YF, Song JF, *et al.* Determination of four organophosphorus pesticides and their metabolites in vegetables using solid-phase extraction coupled with liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. Chin J Chromatogr, 2014, 32(2): 139-144
- [13] Andrade GCRM, Monteiro SH, Francisco JG, *et al.* Liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry and dynamic multiple reaction monitoring method for determining multiple pesticide residues in tomato [J]. Food Chem, 2015, 175: 57-65
- [14] 龙苏, 周毅刚, 王晓春, 等. 固相萃取气相色谱法测定大米中多种有机磷农药残留量[J]. 实用预防医学, 2001, 8(5): 341-342.
Su L, Zhou YG, Wang XC, *et al.* Solid phase extraction GC analysis of residue of organic phosphorus insecticide in rice [J]. Pract Prev Med, 2001, 8(5): 341-342
- [15] 王昭妮, 姚伟琴, 李锋格. 加速溶剂萃取-毛细管气相色谱法测定小麦粉中 21 种有机磷农药残留的研究[J]. 中国卫生检验杂志, 2011, 21(3): 601-603
Wang ZN, Yao WQ, Li FG. Study on methods of twenty one kinds of organophosphorus residues in export flour by accelerated solvent extraction and capillary gas chromatography [J]. Chin J Health Lab Technol, 2011, 21(3): 601-603

(责任编辑: 李振飞)

作者简介



高 丁, 实验员, 主要研究方向为食品质量与安全。

E-mail: gaoding@cofco.com



杨永坛, 高级工程师, 主要研究方向为食品质量与安全。

E-mail: yangyongtan@cofco.com