

气相色谱法测定蔬菜中倍硫磷、倍硫磷亚砷和倍硫磷砷的残留量

许蓉蓉*, 黄焯焯

(广西柳州食品药品检验所, 柳州 545006)

摘要: **目的** 建立同时测定蔬菜中倍硫磷、倍硫磷亚砷和倍硫磷砷的气相色谱法。**方法** 样品经乙腈提取, 氯化钠分层后取有机相进行浓缩, 并置换溶剂成丙酮进行气相分析, 采用 DB-5 色谱柱, 载气流速 1 mL/min, 程序升温条件为: 初始温度 150 °C, 保持 2 min, 以 8 °C/min 的速率升至 200 °C, 保持 20min, 再以 10 °C/min 的速率升至 250 °C, 保持 8 min。**结果** 倍硫磷、倍硫磷亚砷和倍硫磷砷的分离度均大于 1.5, 在 0.02~4 µg/mL 浓度范围内线性关系良好, 方法检出限在 0.02~0.03 mg/kg 之间, 3 个不同浓度回收率为 83.1%~118.2%。**结论** 该方法灵敏度和精密度均满足实际样品检测需求, 可用于蔬菜中倍硫磷及其代谢物倍硫磷亚砷和倍硫磷砷的日常检测。

关键词: 气相色谱法; 倍硫磷; 倍硫磷亚砷; 倍硫磷砷

Determination of fenthion, fenthion sulfoxide and fenthion sulfone residue in vegetables by gas chromatography

XU Rong-Rong*, HUANG Xing-Yan

(Liuzhou Institute for Food and Drug Control, Liuzhou 545006, China)

ABSTRACT: Objective To establish a method for simultaneous determination of fenthion, fenthion sulfoxide and fenthion sulfone residues in vegetables by gas chromatography. **Methods** The samples were extracted by acetonitrile, separated by sodium chloride, concentrated in organic phase, and the solvent was replaced by acetone, and then analyzed by gas chromatography. The temperature programmed conditions were as follows: the initial temperature was 150 °C, keeping 2 min, rising to 200 °C at 8 °C/min, keeping 20 min, then rising to 250 °C at 10 °C/min, keeping 8 min. **Results** The separation of parathion, parathion sulfoxide and parathion sulfone were all greater than 1.5. They had good relationships with the concentration of 0.02-4 µg/mL, and the limits of detection were 0.02-0.03 mg/kg. The recovery rates were 83.1%-118.2% at 3 spiked levels. **Conclusion** The sensitivity and precision of this method can meet the requirements of actual sample detection, which can be used for daily detection of fenthion, fenthion sulfoxide and fenthion sulfone residues in vegetables.

KEY WORDS: gas chromatography; fenthion; fenthion sulfoxide; fenthion sulfone

*通讯作者: 许蓉蓉, 主管药师, 主要研究方向为食品药品质量与安全。E-mail: lotus511@qq.com

*Corresponding author: XU Rong-Rong, Pharmacist, Liuzhou Institute for Food and Drug Control, Liuzhou 545006, China. E-mail: lotus511@qq.com

1 引言

倍硫磷是对人、畜低毒的有机磷杀虫剂,对多种害虫有效,主要起触杀的胃毒作用,残效期长,主要用于防治大豆食心虫、棉花害虫、果树害虫、蔬菜和水稻害虫。其有机磷中毒症状出现较迟,作用慢,但持续时间长,并且症状常出现反复。澳大利亚自2015年10月以后禁止使用含有倍硫磷的产品^[1],我国允许使用倍硫磷,但对其最大残留限量规定比较严格,在蔬菜、谷物和大部分水果中倍硫磷的最大残留限量规定为0.05 mg/kg^[2]。

我国GB 2763-2016《食品安全国家标准 食品中农药最大残留限量》关于残留物的定义是:由于使用农药而在食品、农产品和动物饲料中出现的任何特定物质,包括被认为具有毒理学意义的农药衍生物,如农药转化物、代谢物、反应产物及杂质等。规定倍硫磷的限量以倍硫磷及其氧类似物倍硫磷亚砷和倍硫磷砷的总和计^[2]。我国农药检测标准NY/T 761-2008《蔬菜和水果中有机磷、有机氯、拟除虫菊酯和氨基甲酸酯类农药多残留的测定》中仅有倍硫磷,不含有倍硫磷亚砷和倍硫磷砷^[3],关于蔬菜中倍硫磷残留检测的方法常常只检测倍硫磷,较少关注其氧类似物^[4-13],仅有王建华等^[14]使用液相质谱对倍硫磷及其2种氧类似物进行检测。

本研究在NY/T 761-2008^[3]的基础上进行调整,对倍硫磷、倍硫磷亚砷和倍硫磷砷同时进行检测,选择色谱柱优化分析条件以满足倍硫磷亚砷和倍硫磷砷的分离,同时关注进样系统污染造成倍硫磷亚砷检测异常的情况,最终建立蔬菜中倍硫磷及其代谢物倍硫磷亚砷和倍硫磷砷检测的气相色谱检测方法。

2 材料与方法

2.1 材料与仪器

GC-7890B型气相色谱仪(配有火焰光度检测器,美国安捷伦公司);XP26微量电子分析天平(瑞士梅特勒公司);R-210旋转蒸发器(瑞士布奇公司);T18高速匀浆机(德国艾卡公司);GM200刀式研磨仪(德国莱驰公司);DB-5石英毛细管色谱柱(60 m×0.32 mm, 0.25 μm)、超高惰性衬管衬管(5190-2292)(美国安捷伦公司)。

乙腈、丙酮(色谱纯,德国默克公司);氯化钠(分析纯,广东光华科技股份有限公司);倍硫磷标准品(含量98.0%)、倍硫磷亚砷标准品(含量99.5%)、倍硫磷砷标准(含量99.9%)(德国Dr.Ehrensorfer公司)。

菠菜、芥菜、大白菜、豆角和韭菜,购自本地零售市场。

2.2 标准溶液配制

2.2.1 标准储备液的配制

精密称取倍硫磷、倍硫磷亚砷和倍硫磷砷标准品各

5 mg(精确至0.001 mg),分别置于10 mL容量瓶中,用丙酮溶解并稀释至刻度,摇匀,得到相应的标准储备液,浓度为0.5 mg/mL,于-20℃冰箱保存。

2.2.2 混和标准中间溶液的配制

精密量取倍硫磷、倍硫磷亚砷和倍硫磷砷的标准储备液各2 mL,置于同一10 mL量瓶中,用丙酮稀释至刻度,得到100 μg/mL的混和标准中间溶液。

2.2.3 系列混和标准工作溶液的配制

精密量取混和标准工作溶液适量,用丙酮稀释配制0.02、0.05、0.1、0.5、1.0、2.0和4.0 μg/mL的系列混合标准工作溶液,供取气相色谱测定。

2.3 样品处理

样品经刀式研磨仪粉碎,称取25.0 g置于250 mL锥形瓶中,精密加入50.0 mL乙腈,高速匀浆2 min,用滤纸过滤,滤液收集到装有7 g氯化钠的100 mL具塞量筒中,盖上塞子剧烈振荡1 min,在室温下静置30 min,使乙腈相和水相分层。从具塞量筒中精密量取10.00 mL乙腈溶液置于50 mL浓缩瓶中,40℃旋转蒸发浓缩至近干,用丙酮充分转移至5.0 mL容量瓶中并定容,摇匀后过0.22 μm有机滤膜,供气相分析。

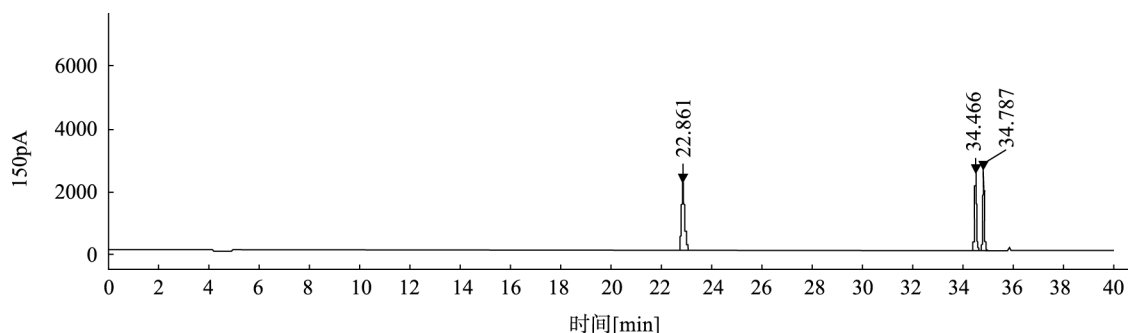
2.4 气相色谱条件

色谱柱为DB-5石英毛细管色谱柱(60 m×0.32 mm, 0.25 μm);不含石英棉的不分流超高惰性衬管;载气:氮气(纯度99.999%);恒流模式;流速1.0 mL/min;进样口温度:220℃;不分流进样,进样量1 μL;检测器温度:250℃,氢气流量75 mL/min,空气流量100 mL/min,尾吹气(氮气)流量60 mL/min;柱温:初始温度150℃,保持2 min,以8℃/min的速率升至200℃,保持20 min,再以10℃/min的速率升至250℃,保持8 min。

3 结果与分析

3.1 气相色谱柱的选择

以相同升温程序“初始温度150℃,保持2 min,以8℃/min的速率升至250℃,保持12 min”和相同流速6 mL/min(其余气相条件同2.4),考察NY/T 761使用的色谱柱DB-1(30 m×0.53 mm, 1.5 μm)和色谱柱DB-17(30 m×0.53 mm, 1 μm),以及色谱柱DB-5(60 m×0.32 mm, 0.25 μm)对倍硫磷、倍硫磷亚砷和倍硫磷砷的适用性。结果表明,使用3种色谱柱时,目标物的峰形都尖锐并呈左右对称,表明3种色谱柱的极性均与目标物相适应。但使用DB-17色谱柱时,倍硫磷亚砷和倍硫磷砷2种化合物的色谱峰重叠;使用DB-1色谱柱时两峰部分重叠,分离度为0.51;使用DB-5色谱柱时两峰部分重叠,分离度1.07。我们选择DB-5色谱柱进行气相条件优化,最终确定“2.4气相色谱条件”,实现倍硫磷亚砷和倍硫磷砷2种化合物色谱峰彻底分离,分离度达到2.43(见图1)。



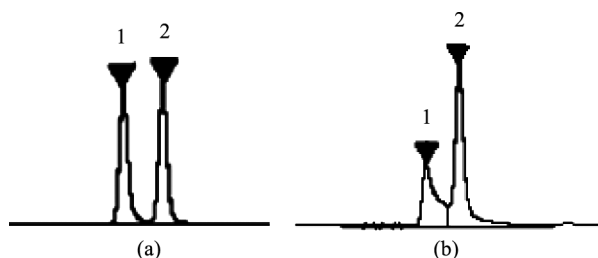
注: 倍硫磷保留时间(retention time, RT)=22.861 min; 倍硫磷亚砷 RT=34.466 min; 倍硫磷砷 RT=34.787 min

图1 标准品溶液的色谱图

Fig. 1 Chromatogram of standard solution

3.2 倍硫磷亚砷的稳定性

试验中发现倍硫磷亚砷在进样系统脏的情况下出现不稳定,其标准品溶液的峰形变小且拖尾(见图2),回收样品溶液峰面积不变,导致该成分回收率异常偏高,标准系列溶液也不呈线性,更换新衬管可解决该异常现象。倍硫磷和倍硫磷砷正常。



注: (a)为正常的色谱峰(峰1为倍硫磷亚砷,峰2为倍硫磷砷);
(b)为异常的色谱峰(峰1为倍硫磷亚砷,峰2为倍硫磷砷)。

图2 标准品溶液的色谱峰

Fig. 2 Chromatographic peak of standard solution

分析3种化合物的化学结构(见图3),倍硫磷是 $p-\pi$ 共轭,倍硫磷砷是 $\pi-\pi$ 共轭,这2种结构共轭程度高,更稳定;而倍硫磷亚砷是 sp^3 杂化,S原子处于中间氧化态且与苯环共轭程度不高,比较活泼,容易与较脏的进样系统中增多的活性位点发生反应,故其标准品溶液峰形变小且拖尾。回收样品溶液有样品基质,基质组分易于限制活性位点,从而降低了目标物在活性位点上的吸附或降解导致的损失,所以回收样品溶液中的倍硫磷亚砷的峰形正常,这是基质诱导增强效应。该效应根源在于气相部分活性位点增多(脏了),使敏感目标物的回收率异常和线性异常,可选用回收率对该问题进行监控,采取更换衬管的方式解决,必要时可对气相进样系统进行全面清洗更新,包括更换衬管、分流平板,用溶剂清洗进样口,以及截掉进样口端色谱柱约50 cm。

3.3 方法验证

3.3.1 方法线性范围

将2.2.3系列混和标准工作溶液在2.4气相色谱条件下进行仪器分析,以目标物的浓度为横坐标,目标物的响应峰面积为纵坐标建立标准曲线。经测定,倍硫磷、倍硫磷亚砷和倍硫磷砷的线性相关系数 r^2 均大于0.99,线性关系良好,符合GB/T 27404-2008《实验室质量控制规范》^[15]的要求。倍硫磷、倍硫磷亚砷和倍硫磷砷的线性方程、线性范围和相关系数结果见表1。

3.3.2 方法的加标回收率、精密度和检出限

在25 g阴性样品中添加3种不同浓度的标准溶液,按2.3样品处理进行前处理,按2.4项下色谱条件进行测定,每个加标水平平行测定6次,结果见表2。本方法在3种不同浓度添加水平下的回收率范围为83.1%~118.2%,相对标准偏差(relative standard deviation, RSD)为1.1%~6.3%,符合GB/T 27404-2008^[15]的要求。

以3倍基线噪音时目标物的响应浓度为折算基础,根据最低标准品添加量的信噪比和加标量,计算实际方法检出限(limit of detection, LOD),结果见表2。GB 2763-2016对蔬菜中倍硫磷的限制为:倍硫磷及其氧类似物(亚砷、砷化合物)之和应小于等于0.05 mg/kg^[2],本方法的检出限均小于0.05 mg/kg,满足检测需求。

3.4 样品测定

对市售菠菜、芥菜、大白菜、豆角和韭菜各4批(共计20批)进行检测,未检出倍硫磷、倍硫磷亚砷和倍硫磷砷,同步回收试验正常。

4 结论

本研究建立了同时测定蔬菜中倍硫磷、倍硫磷亚砷和倍硫磷砷的气相色谱方法。在研究中解决了倍硫磷亚砷和倍硫磷砷的分离度问题,对倍硫磷亚砷的在气相色谱中出现不稳定的情况进行了探讨并给出了解决方案,最终建立

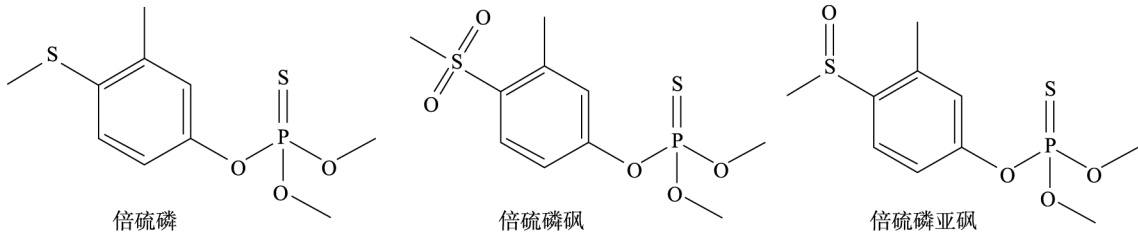


图 3 倍硫磷、倍硫磷砒和倍硫磷亚砒的化学结构式
Fig. 3 Chemical structural formula of fenthion, fenthion sulfone and fenthion sulfoxide

表 1 线性方程及相关系数
Table 1 Linear equations and correlation coefficients

化合物	线性范围(μg/mL)	线性方程	相关系数 r^2
倍硫磷	0.02~4	$Y=6095.6X-47.726$	0.9998
倍硫磷亚砒	0.02~4	$Y=3218.8X-229.79$	0.9949
倍硫磷砒	0.02~4	$Y=4180.8X-228.38$	0.9957

表 2 各化合物回收率、精密度和检出限(n=6)
Table 2 Recoveries, RSDs and LODs of compounds (n=6)

化合物	加标量(μg/g)	回收率(%)	RSD(%)	检出限(mg/kg)
倍硫磷	0.02	83.1	5.4	0.02
	0.04	97.8	1.0	
	1.0	116.9	1.1	
倍硫磷亚砒	0.02	113.3	6.3	0.03
	0.04	108.7	1.7	
	1.0	118.2	1.7	
倍硫磷砒	0.02	93.7	4.3	0.03
	0.04	81.7	1.5	
	1.0	99.6	1.2	

的方法前处理简单，检测灵敏度和精密度好，符合实验室质量控制规范要求^[15]，符合 GB 2763-2016^[2]食品中农药最大残留限量标准对蔬菜中倍硫磷限量控制的检测需求，可用于蔬菜农药残留日常监督的检测。

参考文献

[1] 澳大利亚 10 月起禁止使用含有倍硫磷的产品[EB/OL]. [2015-08-20]. <http://cn.agropages.com/News/NewsDetail---10258.htm>
A ban on the use of parathion in Australia from October [EB/OL]. [2015-08-20]. <http://cn.agropages.com/News/NewsDetail---10258.htm>
[2] GB 2763-2016 食品安全国家标准 食品中农药最大残留限量[S]
GB 2763-2016 National food safety standard-Maximum residue limits for pesticides in food [S].
[3] NY/T 761-2008 蔬菜和水果中有机磷、有机氯、拟除虫菊酯和氨基甲酸酯类农药多残留的测定[S]
NY/T 761-2008 Pesticide multiresidue screen methods for determination

of organophosphorus, pesticides, organochlorine pesticides, pyrethroid pesticides and carbamate pesticides in vegetables and fruits [S].
[4] 杨英桂, 马玉花, 田种存. 气相色谱法测定蔬菜中多种有机磷农药残留量方法的研究[J]. 青海大学学报(自然科学版), 2014, 32(6): 46-51.
Yang YG, Ma YH, Tian ZC. Studies on the determination of residues of organophosphorus pesticides in vegetables by gas chromatography [J]. J Qinghai Univ (Nat Sci Ed), 2014, 32(6): 46-51.
[5] 王钟. 气相色谱—质谱法测定蔬菜中有机磷农药和氨基甲酸酯类农药残留的研究[D]. 济南: 山东大学, 2010.
Wang Z. Study on determination of organophosphorus pesticide and carbamate pesticide residues in vegetables by gas chromatography-mass spectrometry [D]. Jinan: Shandong University, 2010.
[6] 刘仲. 蔬菜中农药残留检测方法研究及济南市市售蔬菜中农药残留监测[D]. 济南: 山东大学, 2008.
Liu Z. Studies on the determination of pesticide residues in vegetables and monitoring of pesticide residues in commercial vegetables in Jinan [J]. Jinan: Shandong University, 2008.

- [7] 吕海霞, 王家斌, 王晓春. 整体柱毛细管电色谱法测定蔬菜中有机磷农药的含量[J]. 光谱实验室, 2007, (4): 735-738.
- Lv HX, Wang JB, Wang XC. Determination of organophosphorus pesticide content in vegetables by monolithic column electrochromatography [J]. J Spectrosc Lab, 2007, (4): 735-738.
- [8] 周珊, 赵立文, 雒丽娜. GC-MS/MS 测定蔬菜中八种有机磷农药[J]. 环境化学, 2006, (6): 683-687.
- Zhou S, Zhao LW, Li LN. Determination of eight organophosphorus pesticides in vegetables by GC-MS-MS [J]. Environ Chem, 2006, (6): 683-687.
- [9] 李浩坤, 陈伟妍, 麦雪萍. 超声提取在蔬菜农药检测中的应用[J]. 广东化工, 2013, 40(24): 145-146.
- Li HK, Chen WY, Mai XP. Ultrasonic extraction method in the detection of vegetable pesticides [J]. Guangdong Chem Ind, 2013, 40(24): 145-146.
- [10] 金叶舟, 柯建赛, 蒋武毅. 离心法测定黄瓜中多种农药残留[J]. 浙江农业科学, 2013, (6): 720-722.
- Jin YZ, Ke JS, Jiang WY. Determination of multiple pesticide residues in cucumber by centrifuge [J]. Zhejiang Agric Sci, 2013, (6): 720-722.
- [11] 吕晶, 张群. 气相色谱在食品中有机磷农药残留的检测应用[J]. 现代食品, 2016, (7): 101-102.
- Lu J, Zhang Q. Determination and application of organophosphorus pesticide residues in food by gas chromatography [J]. Mod food, 2016, (7): 101-102.
- [12] Yu CW, Wang YH. Determination of organophosphate insecticides and herbicide by surface enhanced raman spectroscopy [J]. Rev Adv Sci Eng, 2015, 4(1): 70-76.
- [13] Abad FC, Winck PR, Silva JMD, *et al.* Multiresidue determination of pesticides in carrots using pressurized liquid extraction and gas chromatography with mass spectrometry detector [J]. J Br Chem Soc, 2010, 21(21): 461-468.
- [14] 王建华, 葛敏敏, 张慧丽, 等. QuEChERS 法-液相色谱-串联质谱法测定蔬菜中 7 种农药及其代谢物的残留量[J]. 食品科学, 2017, 38(20): 235-241.
- Wang JH, Ge MM, Zhang HL, *et al.* Determination the residues of seven pesticides and their metabolites in vegetables using QuEChERS method-liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Food Sci, 2017, 38(20): 235-241.
- [15] GB/T 27404-2008 实验室质量控制规范 食品理化检测[S]
- GB/T 27404-2008 Criterion on quality control of laboratories-chemical testing of food [S].

(责任编辑: 姜 珊)

作者简介



许蓉蓉, 主管药师, 主要研究方向为
食品药品质量与安全。

E-mail: lotus511@qq.com