

# 利用气相色谱法检测绿色蔬菜黄瓜中十四种有机磷农药残留

杨 静<sup>1,2</sup>, 曹海峰<sup>2</sup>

(1. 东北农业大学, 黑龙江 哈尔滨 150030; 2. 哈尔滨市农产品质量安全检验检测中心, 黑龙江 哈尔滨 150070)

**摘 要:**选用安捷伦 7890A-FPD, DB-1701(30 m×0.25 mm×0.25 μm)毛细管色谱柱分离, 样品用乙腈提取, 氮吹水浴浓缩温度为 70℃, 建立了 14 种有机磷农药在绿色食品蔬菜黄瓜中的残留分析方法。结果表明:14 种农药在 0.01~1.0 mg/kg 范围内线性良好, 相关系数为 0.9978~0.9998, 在 23 min 内能够完全分离;14 种有机磷农药的回收率均在 65%~120% 范围内, 其相对标准偏差均低于 5%, 以 3 倍信噪比计算出的检出限均低于日本肯定列表限量要求。该方法适用于绿色食品蔬菜中 14 种有机磷农残的同时检测。

**关键词:**绿色蔬菜;黄瓜;气相色谱法;有机磷

**中图分类号:**Q 946.91 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2012)12-0025-04

目前,在蔬菜实际生产过程中,化学农药正被过量或不当使用,由此突显出的严重蔬菜农药残留问题已被越来越多的人所重视。我国农药使用中 70% 为杀虫剂,其中有机磷农药因其杀虫效果好、残效期较短,应用最为广泛,但其急性毒性强,在蔬菜等农产品中的残留易引起食物中毒。同时残留在蔬菜上的有机磷农药进入人体,可引起各系统和功能的损害。因此有机磷农药残留分析成为蔬菜安全的一项重要内容。杨艳玉等<sup>[1-3]</sup>等对不同蔬菜中的有机磷农药残留进行了检测分析表明,蔬菜中存在不同程度的有机磷农药残留。目前,绿色蔬菜逐渐成为大众的首选,而相应的绿色蔬菜的农药残留问题就越来受到全社会的关注。现根据国家绿色蔬菜检测相关标准,归纳总结出绿色蔬菜需检测的主要有机磷农药为 14 种。在此基础上,利用绿色蔬菜黄瓜为基质对该 14 种有机磷农药的残留问题进行研究分析,试图优化出一种可同时准确、有效地检测出绿色蔬菜中 14 种有机磷农药残留的毛细管柱色谱法,以期应用于绿色蔬菜有机磷农药残留检测工作。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

黄瓜:购于超市(绿色蔬菜)。农药标准储备液(国标液):敌敌畏(Dichlorvos);甲胺磷(Methamidophos);

乙酰甲胺磷(Acephate);甲拌磷(Phorate);二嗪磷(Diazinon);乐果(Dimethoate);毒死蜱(Chlorpyrifos);倍硫磷(Fenthion);马拉硫磷(Malathion);杀螟硫磷(Fenitrothion);对硫磷(Parathion);喹硫磷(Quinalphos);水胺硫磷(Isocarbophos);亚胺硫磷(Phosemet)。以上农药标准储备液均由农业部环境保护科研检测所研制提供。主要仪器与设备:安捷伦-7890A 气相色谱仪(配有硫磷检测器,FPD)及其自动进样器;美国安捷伦科技有限公司;高速匀浆机 T25;德国 IKA WORK 生产;电子天平:感量 0.0001 g;旋涡混合器:上海精科 XW-80A;氮吹仪;美国 Organomation 公司生产;食品粉碎机:飞利浦。

### 1.2 试验方法

**1.2.1 样品处理** 将黄瓜样品用食品粉碎机粉碎,准确称取 25.0 g 样品于 150 mL 烧杯中,加入 50 mL 乙腈,用匀质机匀浆 2 min,过滤于 100 mL 具塞量筒中,量筒内事先加入 5~7 g NaCl,剧烈震荡 1 min 后静置约 30 min,使其分层,而后吸取 10 mL 上清液于 15 mL 玻璃离心管内,利用氮气在 70℃ 水浴下将其吹至近干后,用 5 mL 丙酮分次溶解提取物,经有机滤膜过滤后,用于气相色谱分析。

**1.2.2 气相色谱条件** 色谱柱:DB-1701 毛细管柱(30 m×0.25 mm×0.25 μm);升温程序:80℃ 保持 1 min,以 25℃/min 升至 200℃,保持 8 min,再以 30℃/min 升至 260℃,保持 10 min;载气:H<sub>2</sub> 流速 150 mL/min,空气流速 110 mL/min,尾吹流速(N<sub>2</sub>)60 mL/min;进样口温度:240℃;检测器温度 240℃;进样量:1 μL,不分流进样。

**第一作者简介:**杨静(1978-),女,在读博士,讲师,研究方向为蔬菜分子遗传育种,现主要从事蔬菜农药残留检测工作。E-mail: yangjkk@yahoo.com.cn.

**收稿日期:**2012-03-09

1.2.3 定性与定量 以各个农药的保留时间定性,即测得的样品中未知组分的保留时间与标样的保留时间相比较,如果样品中某组分的保留时间与标准品中某一农药的保留时间相差在 $\pm 0.05$  min内可以认定为该农药。

## 2 结果与分析

### 2.1 色谱条件优化

2.1.1 色谱柱的选择 色谱柱的选择是整个色谱分析条件优化过程中最重要的一环。根据检测农药的极性,该试验初步选择弱极性毛细管柱 HP-5 ( $30\text{ m} \times 0.32\text{ mm} \times 0.25\text{ }\mu\text{m}$ )和中极性毛细管柱 DB1701 ( $30\text{ m} \times 0.25\text{ mm} \times 0.25\text{ }\mu\text{m}$ )。通过改变气谱条件,记录不同条件下农药的保留时间和峰值。结果表明,无论如何改变气谱条件,HP-5 毛细管柱都不能将毒死蜱和对硫磷分开,而其余的 12 种农药能很好地分离;而 14 种农药在 DB1701 毛细管色谱柱上得到良好分离。说明所选规格的 HP-5 毛细管柱不适合该试验中 14 种农药的同时检测。因此最后选用规格为  $30\text{ m} \times 0.25\text{ mm} \times 0.25\text{ }\mu\text{m}$  的 DB1701 毛细管色谱柱。

2.1.2 色谱条件的优化 考虑到有机磷农药的热不稳定性和毛细管柱的有效保护,选用程序升温。在所检测的 14 种农药中二嗪磷的沸点最低,为  $83\sim 84^\circ\text{C}$ ,其次为乐果和倍硫磷,分别为  $86$  和  $87^\circ\text{C}$ 。因此将程序升温的初温设为  $50, 65, 80^\circ\text{C}$ 。同时,在所检测的 14 种农药中,毒死蜱的沸点最高,为  $200^\circ\text{C}$ 。因此,为保证相对高沸点农药及试验中可能带入色谱柱中的高沸点杂质全部吹出,该试验采用二阶程序升温,即由初温到  $200^\circ\text{C}$ ,再到  $260^\circ\text{C}$ (所选 DB1701 色谱柱的限温范围为  $-20\sim 280^\circ\text{C}$ ),再根据分离效果和峰形调节程序升温。结果表明,初温的改变对混合样品的分离度和峰型基本没有影响,但初温越低,分析时间越长,因此为减少分析时间,确定程序升温的初温为  $80^\circ\text{C}$ 。同时该试验也发现,由初温以升温速率  $25^\circ\text{C}/\text{min}$  升至  $200^\circ\text{C}$ ,然后以  $30^\circ\text{C}/\text{min}$  的升温速率升至  $260^\circ\text{C}$  时混合样品的分离效果和峰型最好,分析时间也相对较短。根据安捷伦 7890A 仪器操作指南将载气( $\text{N}_2$ )的流速定为  $60\text{ mL}/\text{min}$  适合该试验中农药检测。

### 2.2 提取溶剂及浓缩方法的选择

有机磷农药易溶于有机溶剂,根据相似相容的原理,试验中采用 3 种不同的溶剂作为绿色蔬菜黄瓜中 14 种有机磷农药的提取剂。结果表明,以乙腈作为提取溶剂时,回收率最好;以乙酸乙酯为提取剂时,回收率较好;以二氯甲烷作为提取剂时,甲胺磷、敌敌畏等极性较强的农药的回收率较低,且杂质峰较多。因此,尽管乙腈的价格相对较高,但考虑到试验的准确性及绿色蔬菜农残检测的重要性,还是建议采用乙腈为有机磷农残的提取剂。该试验分别比较了  $80^\circ\text{C}$  水浴锅恒温蒸发、 $40^\circ\text{C}$

旋转蒸发及水浴氮吹 3 种样品提取液浓缩方式。结果表明, $80^\circ\text{C}$  水浴锅恒温蒸发的仪器操作简单,但速度较慢,容易产生冷凝水回流,敌敌畏、甲拌磷等农药的回收率严重偏低,仅达到  $50\%$  左右; $40^\circ\text{C}$  旋转蒸发所需温度低,对提高回收率有一定的好处,且单个样品挥发的速度很快,但样品数量较多时,样品不能同时进行操作,只能依次进行,影响结果的同步比较。在水浴氮吹的浓缩方式下,比较了水浴温度分别为  $40, 50, 60, 70, 80^\circ\text{C}$  的氮吹浓缩效果,发现水浴温度为  $70^\circ\text{C}$  时,既能保证各农药的回收率,又能达到较快的速度,为最佳的浓缩方式。

### 2.3 线性相关性

使用上述色谱条件对  $0.01, 0.1, 1.0\text{ mg}/\text{kg}$  3 种不同浓度的混合标准溶液进行测定,以溶剂中农药的含量为横坐标,峰面积为纵坐标,绘制标准曲线。试验考察的线性范围、线性相关系数及农药的保留时间(表 1)。图 1 为 14 种有机磷农药混合标准溶液(浓度为  $0.1\text{ mg}/\text{kg}$ )的气相色谱图。由表 1 可知,在线性范围  $0.01\sim 1.0\text{ mg}/\text{kg}$  内,该试验所检测的各农药,除敌敌畏和甲胺磷的线性相关系数稍微偏小,分别为  $0.9985$  和  $0.9978$  外,其它农药的相关系数均达到  $0.999$  以上,完全满足试验要求,一定程度上验明了该试验方法的准确性及实用性;由图 1 可知,尽管啶硫磷(RT16.480)与水胺硫磷(RT16.547)的分离效果差些,但其它 12 种农药无论从分离效果还是峰型上都非常好,说明该试验方法能够有效地同时将所检测的 14 种农药进行分离。

表 1 14 种农药检测方法的保留时间、线性范围、相关系数及标准曲线

Table 1 The retention time(RT), linear range, correlation coefficient and standard curve of 14 pesticide

农药 Pesticides	保留时间 RT	线性范围 range/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	线性相关系数 linear $R^2$	标准曲线 Standard curve
敌敌畏 Dichlorvos	5.582	$0.01\sim 1.0$	$0.9985$	$A=7\ 114.7C-16.79$
甲胺磷 Methamidophos	6.129	$0.01\sim 1.0$	$0.9978$	$A=10\ 480C+22.39$
乙酰甲胺磷 Acephate	7.852	$0.01\sim 1.0$	$0.9994$	$A=5\ 302.1C+49.89$
甲拌磷 Phorate	8.779	$0.01\sim 1.0$	$0.9990$	$A=6\ 345.1C+13.45$
二嗪磷 Diazinon	9.730	$0.01\sim 1.0$	$0.9993$	$A=4\ 659.8C+64.57$
乐果 Dimethoate	12.138	$0.01\sim 1.0$	$0.9996$	$A=5\ 229.2C+1.13$
毒死蜱 Chlorpyrifos	14.205	$0.01\sim 1.0$	$0.9991$	$A=3\ 261.8C+132.04$
倍硫磷 Fenthion	15.234	$0.01\sim 1.0$	$0.9993$	$A=5\ 345.9C-10.79$
马拉硫磷 Malathion	15.397	$0.01\sim 1.0$	$0.9993$	$A=6\ 326.7C-22.35$
杀螟硫磷 Fenitrothion	15.556	$0.01\sim 1.0$	$0.9998$	$A=3\ 430.4C+8.12$
对硫磷 Parathion	16.110	$0.01\sim 1.0$	$0.9994$	$A=5\ 141.8C+22.14$
啶硫磷 Quinalphos	16.480	$0.01\sim 1.0$	$0.9995$	$A=8\ 087.3C-20.94$
水胺硫磷 Isocarbophos	16.547	$0.01\sim 1.0$	$0.9992$	$A=4\ 469.7C-9.86$
亚胺硫磷 Phosemet	22.355	$0.01\sim 1.0$	$0.9990$	$A=2\ 356C-11.26$

### 2.4 方法的回收率、精密度及检出限

称取  $25\text{ g}$  黄瓜空白样品,分别加入  $2.5\text{ mg}/\text{kg}$  的混标,使样品中分别含有  $0.01, 0.05, 0.1\text{ mg}/\text{kg}$  的农药,按照 1.2.1 操作方法制备样品溶液,回收率及精密度的试验结果见表 2。图 2 为黄瓜空白样品图谱。图 3 为黄瓜

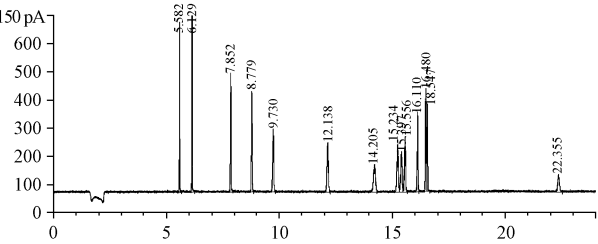


图 1 14 种有机磷农药混合标准溶液  
(浓度为 0.1 mg/kg)的气相色谱图

Fig.1 Gas chromatography of standard mixture of 14 organ phosphorus pesticides (the concentration were all 0.1 mg/kg)

空白样品中加标水平为 0.1 mg/kg 时的图谱。由表 2 可知,当农药添加水平为 0.01、0.05、0.1 mg/kg 时,除乙酰甲胺磷的回收率较低外,其它农药的回收率均为 95%~120%。3 种添加水平下的相对标准偏差均小于 5%,符合农残检测的要求。以 3 倍信噪比计算出的检出限均低于日本肯定列表的限量标准,说明该试验优化的方法实用,选用的安捷伦 7890A-fpd 灵敏度高,符合试验要求。由图 2 黄瓜样品空白图谱可见,该试验选用的黄瓜样品没有农药残留,试验前处理很精细,没有带入杂

质。由图 3 黄瓜样品加标图谱可见,加入样品中的 14 个有机磷一次同时被提取出来,峰型直立尖锐,有利于试验回收率的计算。

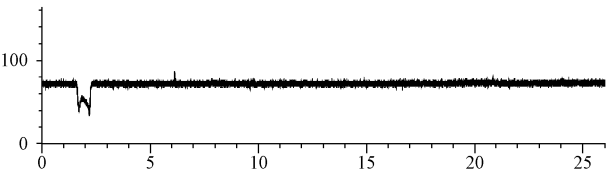


图 2 黄瓜样品空白图谱

Fig.2 The blank map of cucumber sample

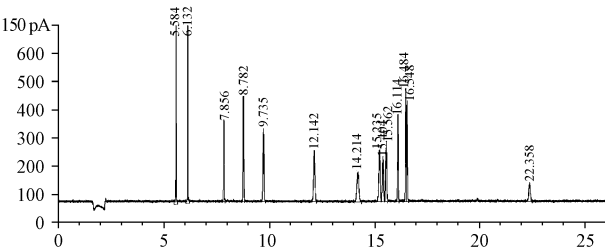


图 3 黄瓜样品加标图谱

Fig.3 The added standard sample map of cucumber sample

表 2 14 种农药的加标水平、平均回收率、精密度及检出限

Table 2 Added lever, average recoveries, precisions(RSDs)and limits of detection(LOD, S/N=3)of 14 pesticides

农药 Pesticides	加标水平 0.01 mg · kg <sup>-1</sup>		加标水平 0.05 mg · kg <sup>-1</sup>		加标水平 0.1 mg · kg <sup>-1</sup>		检出限 LOD /mg · kg <sup>-1</sup>	日本肯定列表限量 Positive List System /mg · kg <sup>-1</sup>
	Added lever		Added lever		Added lever			
	平均回收率 Recoveries/ %	相对标准偏差 RSD/ %	平均回收率 recoveries/ %	相对标准偏差 RSD/ %	平均回收率 recoveries/ %	相对标准偏差 RSD/ %		
敌敌畏 Dichlorvos	102.1	3.2	95.9	3.9	104.2	2.8	0.0092	0.1
甲胺磷 Methamidophos	98.2	4.6	96.3	4.5	100.3	4.0	0.0380	0.5
乙酰甲胺磷 Acephate	65.9	3.2	65.2	3.0	73.6	3.6	0.0321	1.0
甲拌磷 Phorate	111.1	3.5	118.2	3.9	102.2	2.0	0.0070	0.3
二嗪磷 Diazinon	106.8	1.6	102.3	1.3	110.3	1.2	0.0069	0.1
乐果 Dimethoate	118.3	2.5	114.8	2.3	108.4	2.1	0.015	1.0
毒死蜱 Chlorpyrifos	108.4	1.2	101.8	1.4	106.5	1.4	0.0089	0.5
倍硫磷 Fenthion	109.0	1.4	105.9	4.1	110.1	2.4	0.0068	3.0
马拉硫磷 Malathion	112.6	1.9	102.7	0.9	109.1	2.6	0.0059	0.01
杀螟硫磷 Fenitrothion	115.1	2.8	119.3	3.3	108.8	4.3	0.017	0.2
对硫磷 Parathion	108.1	3.5	106.6	4.6	106.3	3.5	0.0085	0.3
喹硫磷 Quinalphos	108.2	1.1	101.1	1.9	104.0	1.6	0.0076	0.05
水胺硫磷 Isocarbophos	97.3	4.9	106.7	4.4	109.2	4.4	0.012	0.5
亚胺硫磷 Phosemet	105.3	4.1	108.2	3.2	108.9	4.7	0.075	1.0

3 结论与讨论

3.1 提取剂的选择

该试验通过比较分析,认为采用乙腈为提取剂时提取效果最好。徐陆妹等<sup>[10]</sup>也比较了乙腈、乙酸乙酯和丙酮做萃取剂时的农残提取效果,同样发现乙腈效果最好。张贵群等<sup>[11]</sup>也认为乙腈的提取效果好,但因其价格较高,毒性较大,所以在其研究中建议采用丙酮-水为提取剂,而不采用乙腈。张友会等<sup>[9]</sup>也在其研究中采用丙酮:正己烷(1:3)作为萃取剂。但该试验中绿色蔬菜的农残检测要求十分严格,尽管乙腈与丙酮、乙酸乙酯

及二氯甲烷相比,虽然价格贵一些,且浓缩时间长,但可同时提取多种农药残留,且提取效高好、操作简单,仍是一种首选提取溶剂。

3.2 方法检出限低于日本肯定列表限量的优势

黄瓜是我国对日出口的主要蔬菜品种之一。2006 年日本实施了“肯定列表”制度,其中涉及黄瓜农药残留限量指标多达 351 项。所以“绿色”黄瓜要顺利进入国际市场,必须充分引进国际标准,有效应对日本“肯定列表制度”和欧盟的“绿色壁垒”。同样,其它的各种出口绿色蔬菜都与黄瓜一样面临着同样的问题,因此,在绿色

蔬菜有机磷农药残留检测上,就必须采用有效的、准确的检测方法。该试验以 3 倍信噪比计算出的检出限明显低于日本肯定列表的限量要求,一定程度上说明了优化的气相检测方法适合绿色蔬菜有机磷农药残留检测,能够有效应对日本肯定列表制度中该 14 种有机磷农药的限量要求,进一步与国际标准接轨。

### 3.3 优化方法对不同绿色蔬菜基质的农药残留的实用性

该试验选用绿色蔬菜中基质较简单的黄瓜为试材,而对于基质较复杂的韭菜、蒜苔等未进行研究。王建华等<sup>[12-14]</sup>等研究表明,韭菜、蒜苔等基质复杂材料,可在试验前先进行微波处理,处理后可和黄瓜基质一样进行检测。因此该试验优化的方法对基质复杂的绿色蔬菜同样适用,只要在采用该试验方法前先对其进行微波处理,但对其进行微波时间等参数有待于下一步工作继续研究。

### 参考文献

- [1] 杨艳玉,范三红,薛平,等.气相色谱法检测黄瓜中的 48 种有机磷农药残留的方法研究[J].食品工程,2008(4):46-49.
- [2] 应兴华,徐霞,胡敏,等.毛细管气相色谱法测定韭菜中 13 种有机磷农药残留的研究[J].分析测试学报,2009,28(10):1185-1188.
- [3] 李文龙,单宝丽,依桂华,等.毛细柱气相色谱法快速测定黄瓜中六种有机磷农药残留[J].黑龙江八一农垦大学学报,2009,21(4):42-44.
- [4] 马丽娜,邵彦来,何颀,等.气相色谱法测定黄瓜中 9 种有机磷农药残留的方法研究[J].农药科学与管理,2006,25(7):18-22.
- [5] 李二虎,胡敏,吴兵兵,等.气相色谱法测定黄瓜中啉虫脒农药残留[J].农药,2006,45(7):479-480.
- [6] 周艳明,关丽,牛森,等.气相色谱法测定蔬菜中克菌丹、灭菌丹、敌菌丹残留量的研究[J].食品科学,2009,30(12):187-189.
- [7] 郭元娟,陈子雷,岳辉.气相色谱法测定黄瓜中啉虫脒残留量[J].农药,2008,47(5):363-364.
- [8] 徐存宽.简述气相色谱仪的检出限[J].粮油食品科技,2009,17(5):36-37.
- [9] 张有会,杨秀培,史兵方,等.气相色谱法测定蔬菜中有机磷农药残留的前处理方法比较[J].云南环境科学,2006,25(2):47-49.
- [10] 徐陆妹,楼冰冰.蔬菜中有机磷和氨基甲酸酯类农药的检测方法研究[J].中国卫生检验,2007(5):852-853.
- [11] 张贵群,聂思桥,龙丽萍,等.气相色谱法分析甘蓝及其土壤中的啉虫脒残留[J].色谱,2010,28(11):1103-1106.
- [12] 王建华,张艺兵,汤志旭,等.微波处理—气相色谱法测定含硫蔬菜中的多类农药残留[J].分析测试学报,2005,24(1):100-102.
- [13] 姜俊,李安,李海燕,等.大葱中 25 种有机磷农药多残留的微波净化-气相色谱测定[J].色谱,2007,25(3):395-398.
- [14] 贾斌,李瑾,冯书慧,等.微波处理-气相色谱法快速测定葱蒜类蔬菜中氟环唑残留[J].农药,2009,48(6):442-443.
- [15] 中华人民共和国国家标准.食品中农药最高残留限量标准[S].GB18406.1-18406.2-2001.

## Determination of 14 Organ Phosphorus in Cucumber of Green Vegetables by Using Gas Chromatography

YANG Jing<sup>1,2</sup>, CAO Hai-feng<sup>1</sup>

(1. Northeast Agricultural University, Harbin, Heilongjiang 150030; 2. Safety of Agriculture Products Quality Testing Center of Harbin, Harbin, Heilongjiang 150070)

**Abstract:** Selected Agilent 7890A-FPD, DB-1701 (30 m×0.25 mm×0.25 μm) capillary column, extracted with acetonitrile, concentration temperature was 70°C with nitrogen blow. An analytical method for the determination of organ phosphorus in cucumber of green vegetables by using gas chromatography was established. The results showed that the 14 organ phosphorus's linearity were good, their correlation coefficient were from 0.9978 to 0.9998 in range 0.01~1.0 mg/kg and they could be separated within the 23 min; At the same time that the 14 organ phosphorus's recovery were from 65% to 120%, and RSD% less than 5%, detection limit less than limits of Japanese Positive List System. The conclusion was that this method was suitable for detecting 14 organ phosphorus in cucumber of green vegetables at the same time.

**Key words:** green vegetable; cucumber; gas chromatography; organ phosphorus