

# 应用 Agilent J&W DB-35ms 超高惰性 GC 柱对苹果中有机磷农药的 GC/MS/FPD 分析

## 应用报告

环境与食品安全

### 作者

Doris Smith 和 Ken Lynam  
安捷伦科技公司  
2850 Centerville Road  
Wilmington, DE 19809-1610  
美国

### 摘要

应用 Agilent J&W DB-35ms 超高惰性 (UI) 20 m × 0.18 mm × 0.18 μm 柱可对目标物进行高效分析分离，提供优异的峰形，即使是分析复杂的有机磷 (OP) 农药也是如此。大部分农药的检测限为 15-25 ng/mL。回收率试验是向苹果基质中添加一定量的标准溶液，GC/MS/SIM 模式下为 150、300、750 ng/mL，FPD 的磷模式下为 50、100、250 ng/mL。结果显示，大部分农药采用 GC/MS/SIM 分析时回收率大于 77%，采用 GC/FPD 分析时回收率大于 75%。

本文详细论述了一种检测苹果提取物中低至 ppm 及痕量级有机磷农药残留的快速、高效的定量分析方法。柱后安装了拥有微板流路控制技术 (CFT) 的设备，可在 MSD 和 FPD 检测器之间起到分流作用，并可实现自动反吹，以减少残留样品的交叉污染并缩短仪器循环使用周期。这种多信号检测配置只通过一次进样即可实现全扫描、选择性离子监测 (SIM) 及火焰光度检测。

使用简单的 QuEChERS (快速、简便、经济、高效、耐用和安全) 方法可保证在进行低浓度检测时，实现样品基质的充分净化。



**Agilent Technologies**

## 前言

有机磷 (OP) 农药广泛应用于农业生产领域, 用于农作物保护。这类农药对人类的毒害, 可表现为急性中毒和慢性中毒。OP 农药通过抑制在调节神经冲动方面有重要作用的乙酰胆碱酯酶, 来影响昆虫和哺乳动物的神经系统 [1]。

相对于成年人, 儿童更易发生有机磷中毒, 因为儿童的每公斤体重能承受的农药量更大 [2]。而且儿童体内降解 OP 农药的解毒酶浓度较低, 导致他们更易受到农药伤害 [3, 4]。近期研究表明, 接触 OP 农药的儿童会增大患注意力缺陷多动症 (ADHD) 和其它神经发育缺陷疾病的风险, 两者具有相关性 [3, 5, 6, 7]。由于儿童接触 OP 农药主要是通过摄取含 OP 农药残留的食物 [2, 8], 因此, 建立测定食品中残留 OP 农药的分析方法至关重要。

水果和蔬菜中农药多残留分析通常采用从植物基质中对农药进行有机溶剂提取的方法, 然后通过净化过程除去共提物及其它干扰物。Anastassiades 等 [9] 开发了一种 QuEChERS 样品前处理方法分析农药残留。该方法简化了传统的、费事的样品提取和净化过程, 是一种快速、耐用、节约成本的残留农药提取方法。

色谱活性化合物如有机磷农药, 能吸附于样品流路中的活性位点上, 尤其在痕量分析时会影响分析物的响应。在色谱系统中, 这些农药往往会与活性位点相互作用, 出现峰拖尾现象。这使得分析工作极具挑战性, 尤其对于复杂基质样品更是如此。为确保定量准确, 减小气相色谱柱活性是必不可少的。Agilent J&W DB-35ms 超高惰性 (UI) 色谱柱最大限度地减小了柱活性, 使其能够进行痕量水平复杂、活性化合物的一致分析。使用中等极性的 DB-35ms UI 固定相比非极性相拥有更大的选择性, 它可帮助分离潜在的共同洗脱峰, 或将目标峰与基质干扰峰分离。

使用能够实现多信号检测的气相色谱系统, 可以在一次进样中就提供目标物鉴别、确认和定量的补充数据。本方法通过在 MSD 和 FPD 间分流柱流出物, 实现有机磷农药的 GC/MS/SIM 和 FPD (磷检测模式) 同时检测。本文方法使用 GC/MSD/FPD 系

统鉴别、确定目标峰的洗脱顺序。一旦洗脱顺序确定, 色谱参数即可轻松地转移到 GC/FPD 系统使用。使用不分流的 FPD 检测可使灵敏度增加三倍, 进一步降低了低浓度样品的检测限。

GC/MS 系统也配备了反吹功能, 可通过进样口清洗阀反吹掉后洗脱的基质组分, 缩短仪器循环分析使用时间。采用这一技术可避免进样之间的长时间烘烤。同时反吹通过有效清除系统中的有害基质组分来延长离子源清洗时间间隔 [10]。

## 实验部分

本系列实验采用 Agilent 7890 GC 仪, 配备 Agilent 5975C MSD 和火焰光度检测器, 以及 Agilent 7683B 自动液体进样器。采用两路微板流路控制技术 (CFT) 装置对流出气按 3:1 的比例分流给 MSD 和 FPD。同时 CFT 装置可实现柱后反吹。表 1 列出了该分析的色谱条件, 表 2 为本实验使用的流路耗材、备件。

表 1. 色谱条件

GC/MSD	Agilent 7890 GC/Agilent 5975C 系列 GC/MSD
进样器	Agilent 7683B 自动液体进样器, 5.0 $\mu$ L 进样针 (安捷伦部件号 5181-1273)
CFT 装置	两路分流器 (安捷伦部件号 G3180B), MSD:FPD 分流比为 3:1
MSD 限流器	1.2 m $\times$ 0.15 mm 内径, 脱活熔融石英毛细管
FPD 限流器	1.4 m $\times$ 0.15 mm 内径, 脱活熔融石英毛细管
PCM 1	恒压 3.8 psi
进样口	1 $\mu$ L 不分流; 250 $^{\circ}$ C; 0.25 min 时开始吹扫, 流量 60 mL/min; 省气流速 20 mL/min, 2 min 时开启
色谱柱	Agilent J&W DB-35ms 超高惰性柱 20 m $\times$ 0.18 mm $\times$ 0.18 $\mu$ m (安捷伦部件号 121-3822UI)
载气	氮气, 恒压模式 43.5 psi, 95 $^{\circ}$ C
柱温箱	95 $^{\circ}$ C 保持 1.3 min, 以 15 $^{\circ}$ C/min 的速度升温至 125 $^{\circ}$ C, 后以 5 $^{\circ}$ C/min 升温至 165 $^{\circ}$ C, 后以 2.5 $^{\circ}$ C/min 升温至 195 $^{\circ}$ C, 最后以 20 $^{\circ}$ C/min 升温至 280 $^{\circ}$ C, 保持 3.75 min
运行后反吹	280 $^{\circ}$ C 保持 5 min, 反吹过程中 PCM 1 压力为 70 psi, 进样口压力为 2 psi
MSD	传输管线: 310 $^{\circ}$ C, 离子源: 310 $^{\circ}$ C; 四极杆: 150 $^{\circ}$ C

表 2. 流路备件

样品瓶	琥珀色螺纹口玻璃样品瓶 (安捷伦部件号 5183-4496)
样品瓶盖	螺纹口瓶盖 (安捷伦部件号 5181-1210)
样品瓶内插管	250 $\mu$ L 玻璃/聚合物支脚 (安捷伦部件号 5181-8872)
进样针	5 $\mu$ L (安捷伦部件号 5181-1273)
隔垫	高级绿色隔垫 (安捷伦部件号 5183-4759)
进样口衬管	脱活的双细径锥螺旋衬管 (安捷伦部件号 5188-5398)
密封圈	内径 0.4 mm 短管; 85/15 聚酰亚胺/石墨 (安捷伦部件号 5181-3323)
PCT 连接	内螺母 (安捷伦部件号 G2855-20530)
PCT 垫圈	SilTite 垫圈, 内径 0.25 mm (安捷伦部件号 5188-5361)
20 倍放大器	20 倍放大环 (安捷伦部件号 430-1020)

## 试剂和化学品

所有试剂和溶剂均为 HPLC 级或超纯农残级。乙腈 (ACN) 为 Honeywell 公司 (Muskegon, MI, USA) 生产, 甲苯为 Burdick & Jackson 公司生产, 丙酮为 JT Baker 公司生产, 均通过 VWR 国际公司 (West Chester, PA, USA) 购买; 12 组分常见农药的套装标准品由 Ultra Scientific 公司制备 (N. Kingstown, RI, USA)。

## 溶液和标准品

OP 农药标准品储备液 (12 种有机磷农药浓度均为 100  $\mu$ g/mL), 用丙酮稀释为浓度 1 和 10  $\mu$ g/mL 的标准溶液。替代标准品三苯基膦 (TPP), 用甲苯制成浓度分别为 1、15 和 100  $\mu$ g/mL 的溶液。将上述标准溶液适当稀释后加入空白基质提取物, 用于绘制标准曲线。

## 样品制备

从当地杂货店购买有机苹果样品。首先把苹果切成小方块, 于  $-80^{\circ}\text{C}$  冷冻过夜。然后将样品彻底研匀。样品提取采用 QuEChERS 法。图 1 为样品制备的流程图。

称取 15 ( $\pm 0.1$ ) g 苹果样品, 置于离心管中。QC 样品加入一定量的标准溶液, 浓度与 3:1 分流比相对应, 使 GC/MS-SIM 检测浓度为 150、300 和 750 ng/mL, FPD 检测浓度为 50、100 和 250 ng/mL。每份样品加入 15 mL 乙腈, 并加入两个陶瓷棒 (安捷伦部件号 5982-9313) 加速提取, 之后涡旋 1 min。将含有 6 g  $\text{MgSO}_4$  和 1.5 g NaCl 的 Bond Elut QuEChERS 提取盐包 (安捷伦部件号 5982-5555) 加入每个离心管中。盖好的离心管先于

Geno/Grinder 组织研磨机上以 1500 rpm 震荡 1 min, 再以 4000 rpm 离心 5 min。

取 8 mL 上层清液, 转移至 15 mL Agilent Bond Elut QuEChERS 通用水果和蔬菜分散 SPE 管 (安捷伦部件号 5982-5058) 中。先将 dSPE 管涡旋 1 min, 再以 4000 rpm 离心 3 min, 完成样品提取。将 dSPE 管中的提取物转移至 GC 样品瓶中, 按照表 1 的色谱条件, 用 SIM GC/MS 和 GC/FPD 进行分析。

采用相同的处理方法, 制备等量的水和乙腈提取物作为试剂空白。

QuEChERS 样品制备工作流程

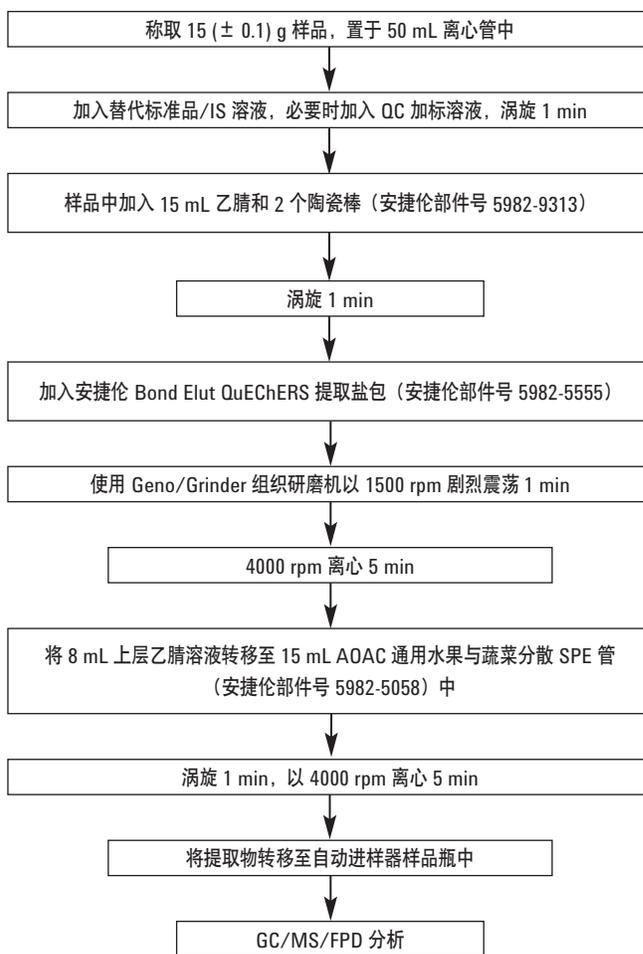


图 1. 苹果样品的安捷伦 QuEChERS 提取流程图

## 结果与讨论

采用 Agilent J&W DB-35ms 超高惰性 20 m × 0.18 mm × 0.18 μm 分析柱, 有机磷农药可在约 30 min 内完成分离。图 2 为基质匹配的 12 组分农药标准品色谱图, 可见在 GC/MS/SIM 和 FPD 两种检测方式下, 各农药均呈现良好的峰形。有机磷农药, 尤其是其中极性较大的, 常出现峰展宽和严重拖尾问题, 使其在低浓度时难以进行准确定量。使用高惰性的 DB-35ms UI 柱可产生更好的峰形, 并可通过减少样品吸附降低检测限。图 3 显示了使用 DB-35ms 超高惰性柱分析四种极性较大的 OP 农药 (砒吸磷、甲胺磷、速灭磷和乙酰甲胺磷) 得到的完美峰形。

在本实验的标准曲线浓度范围内, 使用 DB-35ms 超高惰性高效色谱柱可得到优异的线性和回收率。以农药标准曲线的  $r^2$  值表征色谱柱的线性, 当采用两个检测器时, 所有农药的  $r^2$  均  $\geq 0.992$ 。每种 OP 农药的分析结果见表 3。

采用 GC/MS/SIM, 可检测到浓度范围低至 15-20 ng/mL 的大部分农药。在低于 30 ng/mL 的浓度范围内, 主要由于基质的干扰, 如果要对更易挥发的农药进行定量, 则必需获得较高的 SIM 信号。由于火焰光度检测器的磷检测模式只对含有磷的分析物具有选择性, 故可检测复杂基质中低浓度的有机磷农药而基本不受基质干扰。FPD 可检测的农药浓度可低至 15 ng/mL, 但二溴磷除外, 它只能在更高些的浓度 (>25 ng/mL) 被检测到。二溴磷会脱溴, 这会对检测产生影响, 尤其在痕量水平。本法一般来讲, 其检测水平远低于美国规定的苹果中目标 OP 农药的最大残留限量 (MRLs), 但毒死蜱除外, 它在苹果和葡萄中的 MRL 规定为 10 ppb [11]。GC/FPD 不分流分析可提高检测灵敏度, 满足更低浓度毒死蜱的检测需要。

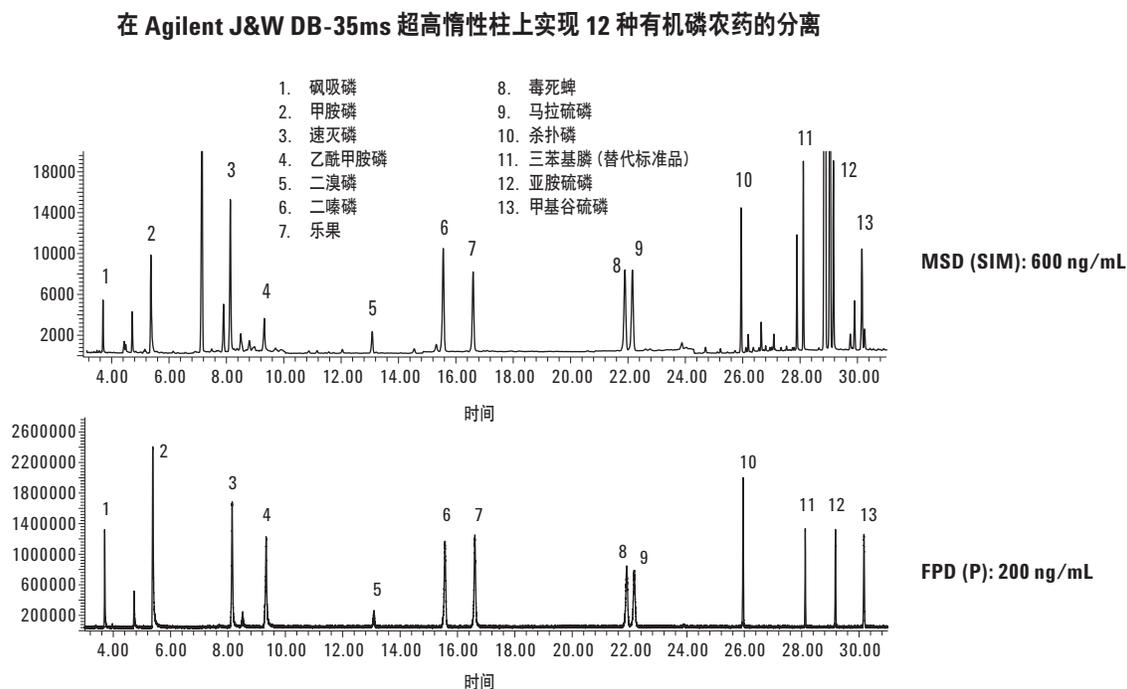


图 2. 采用 Agilent J&W DB-35ms 超高惰性 20 m × 0.18 mm × 0.18 μm 毛细管 GC 柱 (安捷伦部件号 121-3822UI) 分析与基质匹配的有机磷农药标准品的 GC/MS-SIM 及 FPD 色谱图。色谱分析条件见表 1。两个检测器的分流比为 MSD:FPD = 3:1

### 使用 Agilent J&W DB-35ms 超高惰性柱分析低浓度极性农药可获得优异峰形

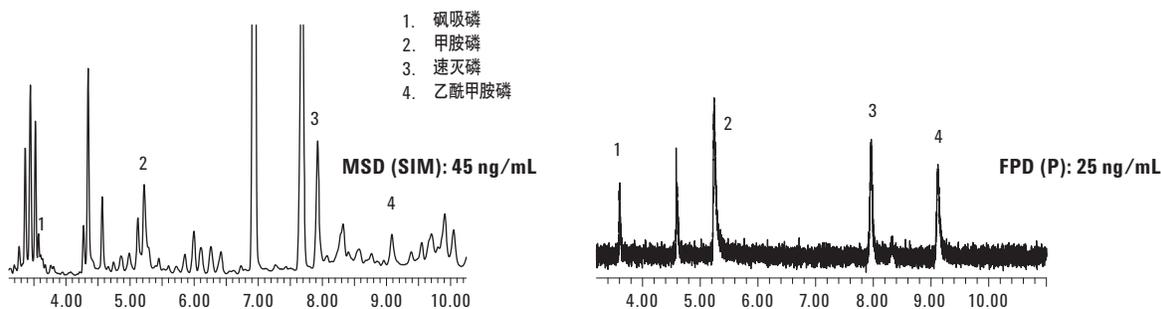


图 3. 使用 Agilent J&W DB-35ms 超高惰性毛细管柱 (安捷伦部件号 121-3822UI) 分析复杂极性农药的 GC/MS/SIM 及 FPD 色谱图的放大截面。色谱分析条件见表 1。两个检测器的分流比为 MSD:FPD = 3:1

表 3. 采用 GC/MS-SIM 及 FPD 磷检测模式制备各有机磷农药校正曲线的相关系数。分流比为 MSD:FPD = 3:1

#### 应用 Agilent J&W DB-35ms 超高惰性柱分析 有机磷农药得到优良线性

	MSD	FPD
砒吸磷	0.994	0.997
甲胺磷	0.997	0.997
速灭磷	0.997	0.999
乙酰甲胺磷	0.997	0.999
二溴磷	0.992	0.996
二嗪磷	0.996	0.997
乐果	0.997	0.999
毒死蜱	0.997	0.998
马拉硫磷	0.995	0.999
杀扑磷	0.996	0.999
三苯基磷	0.999	0.997
亚胺硫磷	0.997	0.999
甲基谷硫磷	0.995	0.999

30, 75, 150, 300, 525, 750, 1500 ppb 浓度下 MSD 分析校准的  $r^2$  值; 25, 50, 100, 175, 250, 500 ppb 浓度下 FPD 分析校准的  $r^2$  值。

在进行 GC/MS 分析时, 使用 QuEChERS 方法可高效提取加标苹果样品中的 OP 农药, 并且可以完全净化样品基质。图 4 展示了加标苹果基质样品中有机磷农药混合物的色谱图。使用 QuEChERS 样品制备方法对基质进行处理, 包括提取/分配及分散-SPE 过程。空白基质的 GC/MS/SIM 谱线低于分析物的谱线, 显示了基质对目标分析物的潜在干扰水平。OP 农药的峰形非常尖锐, 并且分离度良好, 说明了使用 DB-35ms 超高惰性柱分析水果样品的优异性能。

GC/MS-SIM 采用浓度为 150、300 和 750 ng/mL 的溶液进行回收率测定, FPD (磷检测模式) 采用浓度为 50、100 和 250 ng/mL 的溶液进行回收率测定。大部分农药的回收率高于 75%, 平均 RSDs 低于 10%。每种 OP 农药的回收率列于表 4 中。对于极性更高的农药, 如砒吸磷、甲胺磷及乙酰甲胺磷, 只得到较低的回收率。一种可能的原因是这些高水溶性的极性农药在提取过程中部分分配进入水层造成损失 [12]。

采用 Agilent Bond Elut QuEChERS 方法提取和分散 SPE 处理的空白苹果提取物与加标样品对比的 GC/MS SIM 色谱图

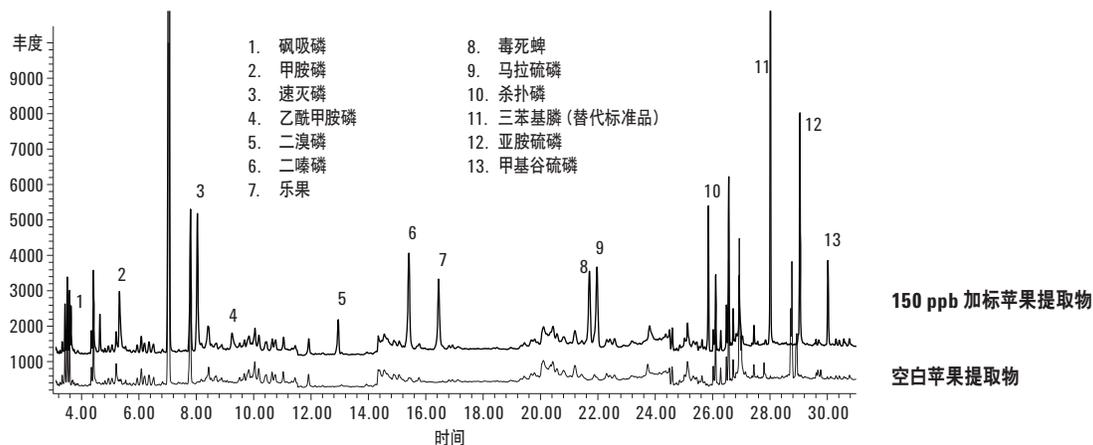


图 4. 使用 Agilent J&W DB-35ms 超高惰性毛细管柱 (安捷伦部件号 121-3822UI) 分析空白苹果提取物和 150 ng/mL 加标苹果提取物的 GC/MS/SIM 色谱图。色谱分析条件见表 1

表 4. 使用 Agilent J&W DB-35ms 超高惰性柱 (安捷伦部件号 121-3822UI) 分析加标苹果样品中 OP 农药的回收率和重现性 (接转下表)

使用 Agilent J&W DB-35ms 超高惰性柱和 GC/MS 的 SIM 模式分析加标苹果样品中 OP 农药的回收率和重现性

分析物	150 ng/mL QC 加标溶液		300 ng/mL QC 加标溶液		750 ng/mL QC 加标溶液	
	回收率%	RSD (n=6)	回收率%	RSD (n=6)	回收率%	RSD (n=6)
砒吸磷	64.6	5.5	64.0	5.0	61.9	8.2
甲胺磷	68.9	8.5	78.6	3.9	83.8	3.9
速灭磷	88.7	4.3	93.4	2.6	97.0	3.2
乙酰甲胺磷	77.5	6.4	80.3	5.2	84.3	2.6
二溴磷	92.9	6.2	87.6	2.4	80.3	5.7
二嗪磷	84.5	3.0	89.0	2.7	90.9	3.0
乐果	90.6	2.9	92.9	3.3	96.6	3.6
毒死蜱	87.0	3.7	91.7	3.1	95.6	3.6
马拉硫磷	92.5	3.8	91.9	3.4	97.3	3.6
杀扑磷	89.6	4.4	92.1	3.4	99.2	3.7
三苯基膦 (替代标准品)	100.6	3.8	101.5	3.1	100.1	3.0
亚胺硫磷	85.9	5.1	86.8	3.4	95.1	3.8
甲基谷硫磷	88.6	4.2	84.3	3.5	95.4	3.9

表 4. 使用 Agilent J&W DB-35ms 超高惰性柱 (安捷伦部件号 121-3822UI) 分析加标苹果样品中 OP 农药的回收率和重现性

使用 Agilent J&W DB-35ms 超高惰性柱和 GC/FPD 分析加标  
苹果样品中 OP 农药的回收率和重现性

分析物	150 ng/mL QC 加标溶液		300 ng/mL QC 加标溶液		750 ng/mL QC 加标溶液	
	回收率%	RSD (n=6)	回收率%	RSD (n=6)	回收率%	RSD (n=6)
砒吸磷	45.8	8.5	60.6	9.4	62.4	7.7
甲胺磷	63.4	9.2	75.5	5.9	83.7	4.3
速灭磷	80.5	5.0	90.1	3.5	93.5	4.1
乙酰甲胺磷	64.1	11.1	78.5	7.5	81.3	7.9
二溴磷	97.2	12.0	87.6	8.0	78.6	8.7
二嗪磷	80.1	2.3	86.7	2.9	90.3	3.5
乐果	80.6	7.2	91.0	3.6	93.6	4.6
毒死蜱	80.8	4.7	91.5	5.5	96.6	4.4
马拉硫磷	84.7	4.4	92.9	4.5	96.9	4.8
杀扑磷	84.7	7.9	93.9	2.6	96.1	4.1
三苯基膦 (代用标准品)	99.6	2.3	99.7	6.0	95.9	3.2
亚胺硫磷	76.6	5.5	89.3	2.6	92.4	4.5
甲基谷硫磷	79.4	7.6	88.5	4.5	93.8	3.2

## 结论

本文成功展示了一种快速、高效的监测低浓度及痕量有机磷农药在苹果中残留的分析方法。分流柱流出气到 MSD 及 FPD 两个检测器, 通过一次进样即可实现 OP 农药的选择分离、鉴别及确证, 从而也提高了实验室的工作效率。使用 GC/MS 全扫描模式可实现特定农药的鉴别, 而 SIM 模式可以提高痕量水平农药定量的选择性及检测灵敏度。FPD 磷检测模式可以实现 OP 农药的确证和进一步的特异性。FPD 检测可以有效地将基质干扰降至最低, 得到更低的检测限。

对于一般的水果及蔬菜来说, 安捷伦 Bond Elut QuEChERS 方法都能够充分净化样品将基质干扰降至最低, 同时还保证了低浓

度分析物的检测。简单的 QuEChERS 提取方法的样品制备更加快速, 从而实现更高通量的检测。容易引起检查污染的残留样品基质可以通过反吹去除, 无需费时烘烤, 有效缩短了分析运行时间。

使用 Agilent J&W DB-35ms 超高惰性毛细管柱可以高效分离目标 OP 农药, 而且分析极性 OP 农药时也可以得到完美峰形, 使低浓度农药的定量结果更加可靠。各 OP 农药的检测水平与美国规定的多种水果中农药的最大残留限量 (MRLs) 相当或更低。对于 GC/MS/SIM 及 FPD, 由与基质匹配的校准标准品得到标准曲线的相关系数  $r^2 \geq 0.992$ , 加标回收率均高于 75%, 平均 RSD <10%, 从而进一步证明了使用 Agilent J&W DB-35ms 超高惰性柱进行农药残留定量分析的高效性。

## 参考文献

1. L. G. Sultatos, "Mammalian Toxicology of Organophosphorus Pesticides. *Journal of Toxicology and Environmental Health*. 1994; 43(3):271 – 289.
2. NRC (National Research Council) (1993) "Pesticides in the Diets of Infants and Children," National Academy Press, Washington, DC.
3. B. Eskenazi, A. R. Marks, A. Bradman A, et al. "Organophosphate Pesticide Exposure and Neurodevelopment in Young Mexican-American Children. *Environ Health Perspect*. 2007; 115:792-798.
4. C. E. Furlong, N. Holland, R. J. Richter, A. Bradman A, A. Ho, B. Eskenazi, "PON1 Status of Farmworker Mothers and Children as a Predictor of Organophosphate Sensitivity." *Pharmacogenet Genomics*. Mar 2006; 16(3):183-190.
5. M. F. Brouhard, D. C. Bellinger, R. O. Wright, and M. G. Weisskopf, "Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder and Urinary Metabolites of Organophosphate Pesticides. *Pediatrics* 2010; 125; e1270-e1277.
6. A. R. Marks, K. Harley, A. Bradman, K. Kogurt, D. B. Barr, C. Johnson, N. Calderon, and B. Eskenazi, "Organophosphate Pesticide Exposure and Attention in Young Mexican-American Children," *Environ. Health Perspect*. doi:10.1289/ehp.1002056.
7. M. Bjørling-Poulsen, H. R. Andersen, and P. Grandjean, "Potential Developmental Neurotoxicity of Pesticides Used in Europe," *Environmental Health* 2008, 7:50 doi:10.1186/1476-069X-7-50.
8. C. Lu, K. Toepel, R. Irish, R. A. Fenske, D. B. Barr, and R. Bravo, "Organic Diets Significantly Lower Children's Dietary Exposure to Organophosphorus Pesticides," *Environ. Health Perspect*. 2006; 114, 260-263.
9. M. Anastassiades, S. J. Lehotay, D. Štajnbaher, F. J. Schenck, "Fast and Easy Multiresidue Method Employing Acetonitrile extraction/Partitioning and 'Dispersive Solid-Phase Extraction' for the Determination of Pesticide Residues in Produce," *J. AOAC Int*. 2003; 86, 412-431.
10. C. J. Meng, "Improving Productivity and Extending Column Life with Backflush," Agilent Technologies publication 5989-6018EN.
11. <http://www.mrlatabase.com/>
12. F. Schenck, J. Wong, C. Lu C, J. Li, J. R. Holcomb, L. M. Mitchell, "Multiresidue Analysis of 102 Organophosphorus Pesticides in Produce at Parts-per-Billion Levels Using a Modified QuEChERS Method and Gas Chromatography with Pulsed Flame Photometric Detection," *Journal of AOAC INTERNATIONAL*, Vol. 92, No. 2, 2009, 561-573.

## 更多信息

如需了解我们有关产品和服务的更多信息，请访问我们的网站：  
[www.agilent.com/chem/cn](http://www.agilent.com/chem/cn)

[www.agilent.com/chem/cn](http://www.agilent.com/chem/cn)

安捷伦对本材料中可能存在的错误，或由于提供、展示或使用本材料所造成的直接或间接的损失不承担任何责任。

本文涉及的信息、说明和技术指标如有变更，恕不另行通知。

© 安捷伦科技（中国）有限公司，2012  
2012年1月6日，中国印刷  
5990-7165CHCN



**Agilent Technologies**