

使用安捷伦 J&W DB-35ms 超高惰性色谱柱和超高惰性玻璃棉衬管在使用/不使用分析保护剂两种情况下测定有机磷农药 (OP)

应用报告

食品安全

作者

Ken Lynam 和 Doris Smith
Agilent Technologies Inc.
2850 Centerville Road
Wilmington, Delaware 19808
美国

摘要

由于玻璃毛衬管的玻璃棉活性较高，因此在传统的农残分析中通常不被采用。本文将安捷伦超高惰性玻璃毛衬管与 Agilent J&W DB-35ms UI 超高惰性色谱柱相结合，测定橄榄油基质中的有机磷农药残留，在使用和不使用保护剂存的两种情况下，均能获得良好的分离效果。

前言

色谱分析中，活性化合物如有机磷可以被吸附到样品流路中的活性位点上，降低被测物的响应，某些痕量分析情况下，还会导致响应彻底消失。由于存在与活性点的相互作用，这些活性较高的农药残留化合物往往在色谱图上表现为峰形拖尾。因此，如何使整个样品流路的表面活性降至最低，以获得始终一致的结果是有机磷农残分析的核心问题【1】。由于甲胺磷、乙酰甲胺磷、氧化乐果和乐果的分子结构中存在 P=O 双键，因此其农药残留分析变得尤其困难。本文中 will 重点讨论这些化合物的情况。

样品流路中可能存在活性点的来源之一为 GC 进样口。农药残留分析中，基质样品的重复进样会导致基质中不挥发组份在进样口衬管和色谱柱头上逐渐聚积，产生活性吸附点，因此需要经常进行维护。这种基质诱导效应会影响化合物的峰形、响应和保留时间。安捷伦超高惰性玻璃毛衬管将活性降至最低，通过去活玻璃毛吸附不挥发组份来防止基质组份在衬管底部和色谱柱头上的沉积【2】。



Agilent Technologies

GC 色谱柱是样品流路中另一个容易形成活性点的来源。相对于进样口衬管，色谱柱具有更大的表面积。因此，使色谱柱的表面活性降至最低，防止出现畸形峰或者活性分析物的损失是要解决的核心问题。安捷伦 J&W DB-35ms 超高惰性色谱柱通过严格的测试探针进行的最苛刻的惰性测试评估，表现出高度一致的性能【3,4】。

需要在农残分析前消除样品路径活性位点。一个比较可行的操作是通过安装一个新的镀金密封垫和彻底去活化的超高惰性衬管来实现整个进样口的惰性。另外，还需要安装使用通过性能测评的超高惰性色谱柱，并对进样参数进行优化，以获得最佳谱图。

在消除流路的活性之后，另一个需要考虑的问题是在农残分析时会出现的基质诱导响应增强效应。该效应表现为，当基质样品进样时，分析物会出现比非基质样品进样更高的峰形和信号响应。产生的原因为样品基质组份产生了类似保护剂的作用，覆盖了进样器中的活性位点，减少了热降解。OP 农残化合物如甲胺磷、乙酰甲胺磷、氧化乐果等分子结构中具有 P = O 双键，经常受基质诱导效应的影响，分析物在基质中比在无基质的标准中产生更高的响应，从而造成加标样品的错误回收率

Anastassiades 等人建议使用分析保护剂最大程度地降低基质诱导响应增强效应造成的误差【5】。这些分析保护剂 (APs) 被加入到基质萃取液中，保护易受影响的分析物使其不发生降解反应。Anastassiades 等人【6】在其随后的研究中列举了大量经过评估可以作为 APs 使用的化合物。基于他们的研究，本应用将古洛糖酸内酯作为分析保护剂进行评估，重点评估在使用分析保护剂的情况下，使用超高惰性玻璃毛衬管以及 DB-35ms UI 超高惰性色谱柱测定 4 种含 P = O 双键的农药残留的优势。

实验部分

安捷伦 7890 GC/5975C MSD，配备火焰光度检测器 (FPD)，安捷伦 7683B 自动进样器用于样品导入。双路分流吹扫微板流路控制装置(CFT)可使流出物按 1:1 进入 MSD 和 FPD。CFT 还可实现柱后反吹【7】。表 1 为该应用的色谱条件。表 2 为该应用的样品流路耗材、备件。

表 1. 色谱条件

GC/MSD	安捷伦 7890/5975C
自动进样器	安捷伦 7683B, 5.0 μ L 自动进样针 (部件号 5181-1273)
CFT	双路分流吹扫 (部件号G3180B)
分流比	1:1 MSD:FPD
MSD 限流器	1.43 m \times 0.18 mm 内径 去活化石英管 (部件号160-2615-10)
FPD 限流器	0.53 m \times 0.18 mm 内径 去活化石英管 (部件号160-2615-10)
Aux EPC	3.8 psi 恒压
进样口	2 μ L 不分流; 250 $^{\circ}$ C; 60 mL/min 吹扫 0.25 min; 载气节约: 2 min 20 mL/min
色谱柱	DB-35ms UI 30 m \times 0.25 mm \times 0.25 μ m (部件号122-3832UI)
载气	氦气, 恒压28.85 psi, 95 $^{\circ}$ C
柱温	95 $^{\circ}$ C (保持0.5 min), 以 25 $^{\circ}$ C/min 的速度升至210 $^{\circ}$ C 后以 10 $^{\circ}$ C/min 的速度升至250 $^{\circ}$ C (保持0.5 min), 接着 20 $^{\circ}$ C/min 升至290 $^{\circ}$ C (保持4.5 min)
柱后反吹	290 $^{\circ}$ C, 8.75 min, Aux EPC: 45 psi ; 进样口: 2 psi
MSD	传输线 300 $^{\circ}$ C, 离子源 300 $^{\circ}$ C, 四级杆 150 $^{\circ}$ C
FPD	230 $^{\circ}$ C, 氢气 75 mL/min, 空气 100 mL/min, 载气+补偿气(N ₂) 60mL/min

表2. 流路耗材

样品瓶和瓶盖	琥珀色螺纹盖样品瓶套装, 通过质谱测试 (部件号 5190-2283)
样品瓶内插管	250 μ L 玻璃/聚合物支脚 (部件号 5181-8872)
进样针	5 μ L (部件号 5181-1273)
隔垫	高级绿色隔垫 (部件号 5183-4759)
进样口衬管	超高惰性单细径锥衬管, 内装去活玻璃棉 (部件号 5190-2293)
毛细管柱密封圈	短, 0.4 mm ID; 85/15 vespel/石墨 (部件号 5181-3323)
PCT 接头	内螺母 (部件号 G2855-20530)
PCT 密封圈	SiTite 密封圈, 0.25 mm id (部件号 5188-5361)
20 倍放大器	20倍放大器 (部件号 430-1020)

试剂和化学品

所有试剂和溶剂均为 HPLC 或 Ultra Resi 级。乙腈 (CAN) 购自 Honeywell 公司 (Muskegon, MI, USA), 甲苯购自 Burdick & Jackson 公司, 丙酮通过 VWR International (West Chester, PA, USA) 购买于 JT Baker 公司。农残纯标购自 Chem Service, Inc. (West Chester, PA, USA), 古洛糖酸内酯购自 Aldrich 公司 (St. Louis, MO), 三苯基磷酸盐购自 Alfa Aesar 公司 (Ward Hill, MA)。

溶液和标准

使用丙酮配置 OP 有机磷农残的单标, 浓度 1~2mg/mL。再用丙酮稀释成每组分浓度 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的单标储备液。标准使用液是用贮备液稀释而成, 浓度范围 1~5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。三苯基磷酸盐(TPP)的甲苯溶液作为替代物标准使用, 浓度分别为 1, 15 和 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。将一定量的古洛糖酸内酯溶解在最少量的水和适量的 ACN 中制成分析保护剂, 浓度为 50 mg/mL。通过适当稀释, 将农残标准使用液和替代物标准使用液 (或称内标) 在基质空白萃取液中配制成基质标液。将适量古洛糖酸内酯溶液加入到校准系列中配制成各含古洛糖酸内酯 0.5 mg/mL 的校准系列。

样品制备

以购自当地商店的特级初榨橄榄油作为样品进行分析。样品萃取采用改进型 QuEChERS 方法。图 1 显示了样品处理流程图。

称量两份 3.00 (± 0.05) g 橄榄油样品于离心管中。各加入一支搅拌子(部件号 5982-9313)以帮助样品萃取, 各加入 7 mL 试剂级冷水, 涡旋 1 min; 再各加入 10 mL ACN, 涡旋 1 min; 再各加入 1 份安捷伦原装 QuEChERS 萃取试剂包(部件号 5982-5550), 包括 4 g MgSO_4 和 1 g NaCl 。将离心管盖上塞子, 先在 1500 rpm 的机械振荡器上震荡 1 min, 再在 4000 rpm 的离心机上离心 5 min。

取 8 mL 上清液至安捷伦 QuEChERS AOAC 分散固相萃取 (dSPE) 的 15 mL 样品管中制备油脂类样品(部件号 5982-5158)。dSPE 样品管先涡旋 1 min, 再以 4000 rpm 离心 5 min, 将大约 5.5 mL 萃取液转移到另一支 dSPE 样品管中重复上述操作, 进行二次萃取。收集第二次的萃取液, 加入适量的农残标准使用液和替代物标准使用液, 配成基质标液。加入适量古洛糖酸内酯溶液, 使其浓度为 0.5 mg/mL。萃取液随之经 GC/MS/FPD 按照表 1 中所列的色谱条件进行测定。

QuEChERS 样品制备流程



结果和讨论

需要制备大量的橄榄油基质样品以满足在 GC/MS/FPD 系统和同一根 DB-35ms UI 超高惰性色谱柱上重复 100 次进样的需要。安捷伦超高惰性玻璃毛衬管的性能通过重复进样 100 次 250 ng/mL 的基质标液进行评估。每 100 次基质进样后, 会运行一针溶剂空白。首先在无分析保护剂条件下, 对超高惰性玻璃毛衬管的性能进行测试。然后将色谱柱头切掉一段, 装上新的镀金密封圈, 隔垫, 超高惰性玻璃棉衬管和 O 型圈, 基质标液中加入古洛糖酸内酯溶液, 在有分析保护剂的条件下对衬管性能进行测试。对甲胺磷, 乙酰甲胺磷, 氧化乐果和乐果的结果进行仔细计算, 评估 GC/MS/FPD 中超高惰性玻璃毛衬管的性能和使用分析保护剂对结果的影响。

图 2 为 QuEChERS 基质标液在安捷伦超高惰性玻璃毛衬管上第 1 次、第 50 次和第 100 次进样的农残色谱图。甲胺磷，乙酰甲胺磷，氧化乐果和乐果的信号响应和峰形在整个进样过程中基本保持一致。所有 4 种目标 OP 农残的重现性均取得良好的结果，100 次进样的 %RSD < 9%。表 3 为每种 OP 农残在 10 次、50 次和 100 次进样后的 % RSD。信号强度、峰形和峰面积结果的高度一致表明超高惰性玻璃毛衬管可成功应用于 100 或更多次 QuEChERS 基质进样，并可高效地将样品中的问题有机磷组份分离至检测器进行检测。

使用安捷伦超高惰性玻璃毛衬管进行 100 次有机磷农残进样

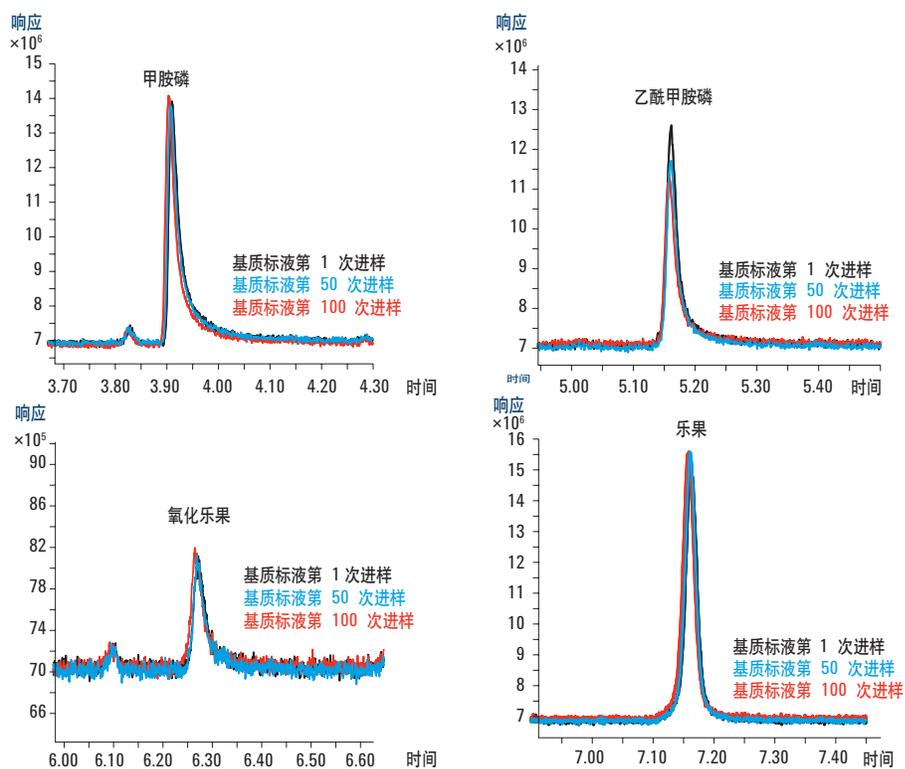


图 2. 在无分析保护剂条件下，复杂有机磷农残在超高惰性玻璃毛衬管上第 1 次、第 50 次和第 100 次进样的谱图叠加比较

安捷伦超高惰性玻璃毛衬管的重复性 (%RSD)

表 3. 在无分析保护剂条件下, 250 ng/mL 基质标液在安捷伦超高惰性玻璃毛衬管上不同进样次数得到结果的重复性

农残	不同进样次数 %RSD		
	10	50	100
甲胺磷	2.6	2.6	3.9
乙酰甲胺磷	2.2	4.6	8.7
氧化乐果	3.8	4.1	4.6
乐果	2.9	2.7	2.7

图 3 为分别在使用/不使用分析保护剂两种条件下, 在超高惰性玻璃棉衬管上进样 100 次后, 基质标液的响应比较图。从图中可以看出, 对于大多数问题 OP 农残, 使用分析保护剂可以显著增强信号响应, 对乐果而言, 分析保护剂只对其信号响应稍有改善。使用分析保护剂, 乙酰甲胺磷和氧化乐果的信号响应增强了 40%, 甲胺磷的信号增强了 20%, 乐果的信号增强了 8%。分析保护剂主要还改善了乙酰甲胺磷、氧化乐果和甲胺磷的峰形。图 3 还对 100 次进样后的峰拖尾因子进行了比较, 说明分析保护剂对样品流路潜在活性点的覆盖作用可以使基质样品集中出峰, 减少拖尾。

分别在使用与不使用分析保护剂的条件下, 峰形和信号响应的对比

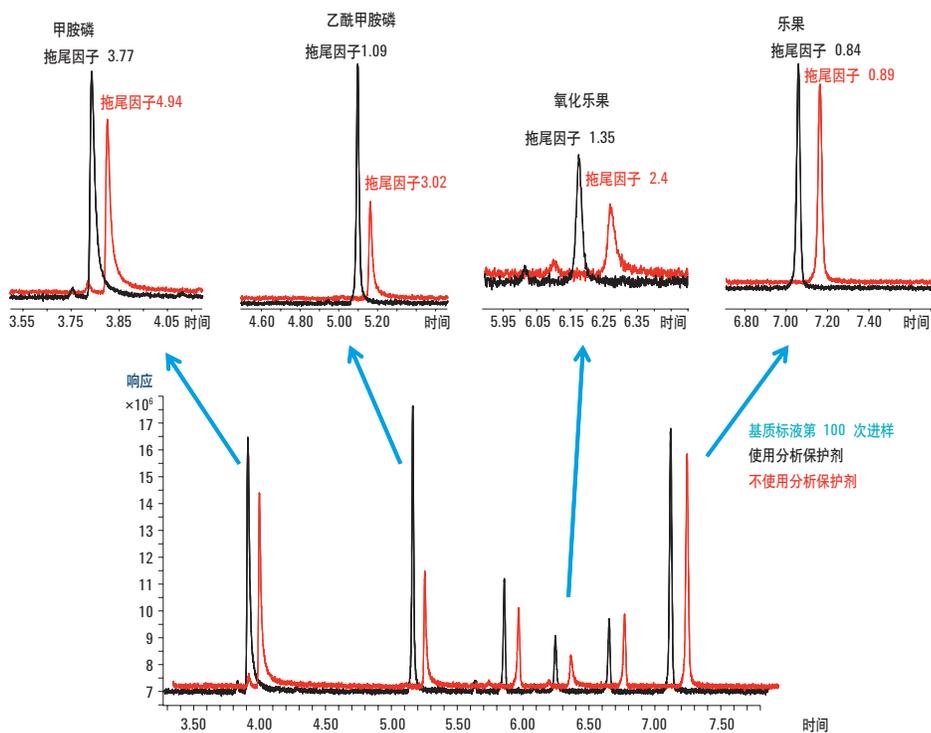


图 3. 在使用和不使用分析保护剂两种条件下, 复杂 OP 农残在超高惰性玻璃毛衬管上第 100 次进样的谱图叠加和保留时间偏移比较

结论

以上结果明确显示, 使用安捷伦超高惰性玻璃棉衬管在至少连续 100 次橄榄油 QuEChERS 基质进样后仍能有效测定有机磷农残。对复杂样品的 250 ppb 的有机磷农残溶液, 分别对其第 1 次、第 50 次和第 100 次进样的信号响应和峰形进行了比较, 结果表现出高度的一致性。这种一致性无论古洛糖酸内酯分析保护剂存在与否都存在。结果的一致性还说明该研究中, 因为与超高惰性衬管中的玻璃毛的相互作用, 没有造成农残组份的损失。

古洛糖酸内酯分析保护剂的加入确实提高了乙酰甲胺磷和氧化乐果的信号响应和峰形, 甲胺磷和乐果的信号和峰形也有所改善, 但不及前二者明显。所有可以提高系统和样品路径惰性的合理方法均可以被尝试, 以获得具有挑战性 P=O 双键的有机磷农残测定结果的一致性和准确性。最新维护的进样口, 超高惰性玻璃毛衬管和安捷伦 DB-35ms 超高惰性色谱柱所组成的高度去活的系统在一定程度上也受益于古洛糖酸内酯分析保护剂的加入。

超高惰性玻璃毛衬管和 DB-35 ms 超高惰性色谱柱的组合被证明是 4 种含 P=O 双键有机磷农残分析的最佳工具, 可以获得一致的回收率和峰形。甲胺磷、乙酰甲胺磷、氧化乐果和乐果这些公认的问题农残在使用超高惰性玻璃毛衬管和 DB-35 ms 超高惰性色谱柱, 重复 100 次基质进样后, 不管分析保护剂添加与否, 均能获得高度一致的结果。

参考文献

1. D. R. Erney, A. M. Gillespie, D. M. Gilvydis, C. F. Poole. Explanation of the matrix-induced chromatographic response enhancement of organophosphorus pesticides during open tubular column gas chromatography with splitless or hot on-column injection and flame photometric detection. *Journal of Chromatography* 1993; 638, 57-63
2. D. Smith 和 K. Lynam “应用安捷伦 J&W DB-35ms 超高惰性色谱柱对橄榄油中的有机磷农残进行 GC/FPD 分析” 安捷伦科技. 出版号 5990-7722CHCN

3. 科技综述” Agilent J&W 超高惰性 GC 色谱柱: 一种新的应对活性化合物分析挑战的强大工具” 安捷伦科技, 出版号 5989-8665CHCN
4. K. Lynam, “使用通过惰性检测的 Agilent J&W DB-5ms 超高惰性色谱柱分析半挥发性化合物” 安捷伦科技, 出版号 5989-8616CHCN
5. 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
6. M. Anastassiades, K. Mastovska, and S. J. Lehotay. Evaluation of analyte protectants to improve gas chromatographic analysis of pesticides. *Journal of Chromatography A.* 2003; 1015, 163-184
7. C. K. Meng, “利用反吹技术提高柱效和延长色谱柱寿命” 安捷伦科技, 出版号 5989-6018CHCN

更多信息

如需有关我们产品和服务的更多信息, 请访问 www.agilent.com/chem/cn

www.agilent.com/chem/cn

安捷伦科技公司对本资料中所包含的错误, 以及由于提供或使用本资料所引起的相关直接或间接损失不承担任何责任。

本书中的信息、说明和性能指标如有变更, 恕不另行通知。

© 安捷伦科技 (中国) 有限公司, 2011
中国印刷
2011 年 6 月 2 日
5990-8235CHCN



Agilent Technologies