

粮食中马拉硫磷检测最优化色谱条件的探讨

王江蓉, 黄力, 邓志坚, 黄卫

(湖南省粮油产品质量监测站, 湖南 长沙 410005)

摘要: 本文通过使用 AC10 毛细管柱进行实验研究, 探讨了设置 GC 色谱分离条件: 柱温、载气流速 (柱流量)、检测器温度、汽化室温度、汽化室分流出口吹扫流量及吹扫时间、检测器的燃气与助燃气流量、尾吹气流量对峰高、峰面积、保留时间的影响, 找到了最佳的色谱条件, 该色谱条件检测马拉硫磷的最小检出浓度为 0.005 mg/kg, 测定保留时间的相对标准偏差为 0.27%, 峰面积的相对标准偏差为 0.38%, 结果显示该色谱条件的灵敏度、精密度良好, 证明了我们选择的最佳色谱条件完全满足粮食卫生标准规定的原粮中马拉硫磷残留限量标准的检测要求。

关键词: 马拉硫磷; 最佳色谱条件; 峰高; 峰面积

中图分类号: TS207.5+3; **文献标识码:** A; **文章篇号:** 1673-9078(2007)04-0075-04

Study on the Optimization of Chromatographic Parameters in Determination of Malathion in Cereal

WANG Jiang-rong, HUANG Li, DENG Zhi-jian, HUANG Wei

(Cereal and Oil Quality Monitoring Station of Hunan Province, Changsha 410005, China)

Abstract: Using AC10 capillary column for GC analysis of malathion content in Cereal, the influence of peak height, peak area and retention time, oven temperature, carrier gas flow rate (column flow), detector temperature, injector temperature, purge flow and time for split vent, H₂ flow and Air flow, make-up flow rate, were discussed and optimized. The detection limit of the method was 0.005 mg/kg and the recoveries of malathion and coefficient variation ranged from 78.54% to 92.03% and from 1.52% to 5.32%, respectively. Results showed that the sensitivity, accuracy and precision of the method were suitable for the residue analysis of pesticide. It also proved that the detection limit of the method with the optimized chromatographic parameters were in accordance with the requirement for testing MRL of malathion according to the hygienic standard for grains completely.

Key words: malathion; peak height; peak area; optimized chromatographic parameters

马拉硫磷的英文通用名 malathion, 即 0,0-二甲基-S-(1,2-一二乙氧基羰基乙基)二硫代磷酸酯, 熔点: 2.9~3.7 °C, 沸点: 156 °C (1.43 kPa), 是一种高效低毒的有机磷杀虫剂, 具有良好的触杀和一定的熏蒸作用, 是常用的防治农业害虫的化学农药。广泛应用于防治麦类、水稻等作物上的害虫, 也可用于防治仓库害虫, 为了研究化学农药在粮食作物中的残留规律, 首先必须进行气相色谱条件的优化, 因为现行国标方法提供的是使用填充柱的色谱条件, 而我们使用毛细管色谱柱分析时必须摸索出相应的色谱条件, 使其达到国标检测方法的要求, 满足日常分析工作的需要。本文通过使用中等极性的 AC10 毛细管柱进行实验研究, 探讨了柱温、载气流速 (柱流量)、检测器温度、

收稿日期: 2007-01-01

作者简介: 王江蓉(1970-), 女, 食品工程师, 在职研究生, 研究方向: 农产品贮藏与加工

汽化室温度、汽化室分流出口吹扫流量及吹扫阀开启时间 (以下简称吹扫时间)、检测器的燃气与助燃气流量、尾吹气流量对峰高、峰面积、保留时间的影响, 采用提高仪器检测灵敏度和缩短分析时间的为最佳色谱条件, 现将研究结果小结如下。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

1.1.1 仪器

Agilent 6890 气相色谱, 配有火焰光度检测器、526 nm 磷滤光片及化学工作站; AC10 30 m×0.22 mm×0.25 μm 毛细管色谱柱; 载气为 99.999%高纯 N₂。

1.1.2 试剂

二氯甲烷 (分析纯, 重蒸馏), 马拉硫磷标准溶液 (农业部环境保护科研监测所研制, 浓度 100 μg/mL)。

1.2 实验方法

1.2.1 选择最佳色谱条件

采用同样浓度的标准溶液进行实验,先参考国家标准^[1]和相同仪器的工作条件,单独变化其中的一项,流量或温度等,看它对被测组分的峰高、峰面积、保留时间的影响,选择能提高仪器检测灵敏度和缩短分析时间的为最佳条件,然后固定下选择好的这一项再选择另一项,逐个进行,经实验最佳色谱条件为:

柱温:初温 150 °C,以 15 °C/min 速率升到 220 °C,保留 3 min;柱流量 2.5 mL/min,检测器 240 °C,汽化室 250 °C;不分流模式进样;汽化室分流出口吹扫流量 60 mL/min、分流吹扫 1.0 min,检测器的燃气与助燃气 H₂: 150 mL/min;空气: 110 mL/min;尾吹气流量 60 mL/min,标准和样品溶液进样量均为 1.0 μL。

1.2.2 最低检出限的测定

在选定的最佳色谱条件下,取马拉硫磷标准溶液逐步稀释进样,以 3 倍噪声计算,折算得最低检出限为 0.005 mg/kg。

1.2.3 精密度试验

在选定的最佳色谱条件下,用相同浓度的马拉硫磷标准溶液进行重复测定。

2 结果与讨论

2.1 柱温的选择

参照 GB/T 5009.20-2003 粮、菜、油中有机磷农药残留量的测定方法,柱温为恒温 180 °C^[1],此条件针对填充柱使用,我们使用的毛细管柱需通过实验寻找最佳柱温。通常采用程序升温可以缩短分析时间,根据 Agilent 6890 仪器说明,柱箱起始温度建议采用低于二氯甲烷溶剂沸点 10 °C,因此我们定程序升温起始温度为 30 °C,再以 50 °C/min 速率升到 220 °C,保留 3 min,但因此程序升温模式升降温平衡时间较长,不能满足快速分析的需要,而且马拉硫磷的沸点较高,因此采用不分流进样模式,此时可以不考虑溶剂沸点;采用高的初始柱温还可缩短分析时间^[7],经比较调整程序升温模式为 150 °C,以 15 °C/min 速率升到 220 °C,保留 3 min。两种程序升温模式对测定结果的影响不大,因此选了后一种程序升温模式。

2.2 载气流速的选择

载气流速是一个重要的操作变数,直接影响分离效能和分析速度,本实验以柱流量来衡量,所用 0.22 mm 内径毛细管柱的 U 最佳载气速度为 27.3 cm/s,柱流量为 0.7 mL/min。但流速高时出峰快、峰扩宽度小,响应灵敏度较高,分析时间可缩短,一般可以在 U 最

佳及 3 倍 U 最佳之间调节载气流速^[8]。3 倍 U 最佳时柱流量为 4.6 mL/min,因此在 0.7~4.6 mL/min 之间选择了居中的三种流量进行实验,通过比较不同柱流量条件下测定结果(见表 1),发现柱流量 2.5 mL/min 时,保留时间最短,峰面积最大,因此柱流量可选择 2.5 mL/min,这样可提高分析灵敏度,缩短检测时间。

表 1 不同柱流量下测定值

柱流量 column flow	保留时间 retention time	峰面积 peak area	峰高 peak height
1.5 mL/min	6.63	153.4	27.8
2.0 mL/min	5.56	256.9	49.5
2.5 mL/min	4.46	367.5	44.0

注:保留时间单位为 min;峰高单位为 PA;峰面积单位为 PA*S。以下同)。

2.3 检测器温度的选择^[3]

一般来说检测器温度太低会造成峰形不好(拖尾峰,峰宽变大),把柱流失组分和高沸点组分及水蒸气留在插入检测器的那段柱子中,同时污染检测器;检测器温度太高,会使插入检测器的柱子固定相分解,使柱管变脆,同时还损伤检测器。在保证出峰效果好、灵敏度高、柱子及检测器良好保护状态下,优化选择的原则是比柱温最终的温度高 20~50 °C,不超过柱子允许的最高温度。本实验中所用 AC10 毛细管柱的最高允许温度是 270 °C,柱箱程序升温的终温是 220 °C,因而检测器的温度可在 240 °C 到 270 °C 之间,但因 Agilent 气相 FPD 检测器的使用极限温度是 250 °C,所以可选择的检测器的温度为 240 °C 至 250 °C,通过实验发现这两个温度条件下测定对响应值影响不大,因此检测器温度选择 240 °C。

2.4 汽化室温度的选择^[3]

汽化室温度设置的要求是保证样品中物质完全汽化且不会热分解,合适的汽化室温度有助于峰形的改善及分离效果的提高,通常选择高于柱温 10~50 °C,但不超过柱子允许的最高温度,表 2 的测定结果可看出当汽化室温度为 250 °C 时,峰高、峰面积均达到最高值,因此汽化室温度选择 250 °C。

表 2 不同汽化室温度下测定值

温度 temperature	保留时间 retention time	峰面积 peak area	峰高 peak height
230 °C	4.47	333.5	38.0
240 °C	4.48	366.0	42.5
250 °C	4.46	367.5	44.0

2.5 汽化室分流出口吹扫流量及吹扫时间的选择^[4]
分流出口的流量(开启分流阀后)一般为(30~60)

mL/min。只要开启分流阀的时间设置正确,分流出口流量在此范围内变化对分析结果的影响很小^[7]。在不分流进样模式,吹扫阀在进样期间保持关闭状态,样品在衬管中汽化并转移至柱中,在进样后的指定时间,吹扫阀将打开并将衬管内所有剩余蒸汽吹扫出分流出口。对于高沸点样品,不分流时间(吹扫时间)长一些有利于提高分析灵敏度,而不影响测定准确度^[7]。经过比较表 3 中不同吹扫流量和表 4 中不同吹扫时间下测定值,可以发现当吹扫时间定为 1.0 min 时吹扫流量设置对检测器的响应值(峰高和峰面积)影响不大,但由于农残分析一般是痕量分析,因此应尽量提高检测灵敏度,吹扫流量 60 mL/min 时,峰高和峰面积测定值最大,因此以吹扫流量 60 mL/min 为本实验的分析条件。相反吹扫时间对色谱分离和测定结果影响很大,吹扫阀开启时间早,溶剂峰不拖尾和展宽(见图 1),但也有可能组分峰没有来得及汽化完全随溶剂一起扫出检测器,吹扫阀开启时间晚,虽然溶剂峰有一些拖尾和展宽,但马拉硫磷出峰时间晚,不会被溶

剂峰覆盖或重叠,溶剂峰与马拉硫磷组分峰的分离度已经达到一般分析要求,而且此吹扫时间测定的峰高和峰面积值最大,故吹扫时间以 1.0 min 为宜。

表 3 不同吹扫流量下测定值

吹扫流量 purge flow	保留时间 retention time	峰面积 peak area	峰高 Peak height
30 mL/min	4.45	360.8	41.9
45 mL/min	4.44	361.5	42.1
60 mL/min	4.46	367.5	44.0

表 4 不同吹扫时间下测定值

吹扫时间 purge time	保留时间 retention time	峰面积 peak area	峰高 Peak height
0.0 min	4.40	41.3	6.3
0.3 min	4.41	43.3	7.1
0.7 min	4.43	208.3	25.6
1.0 min	4.46	367.5	44.0

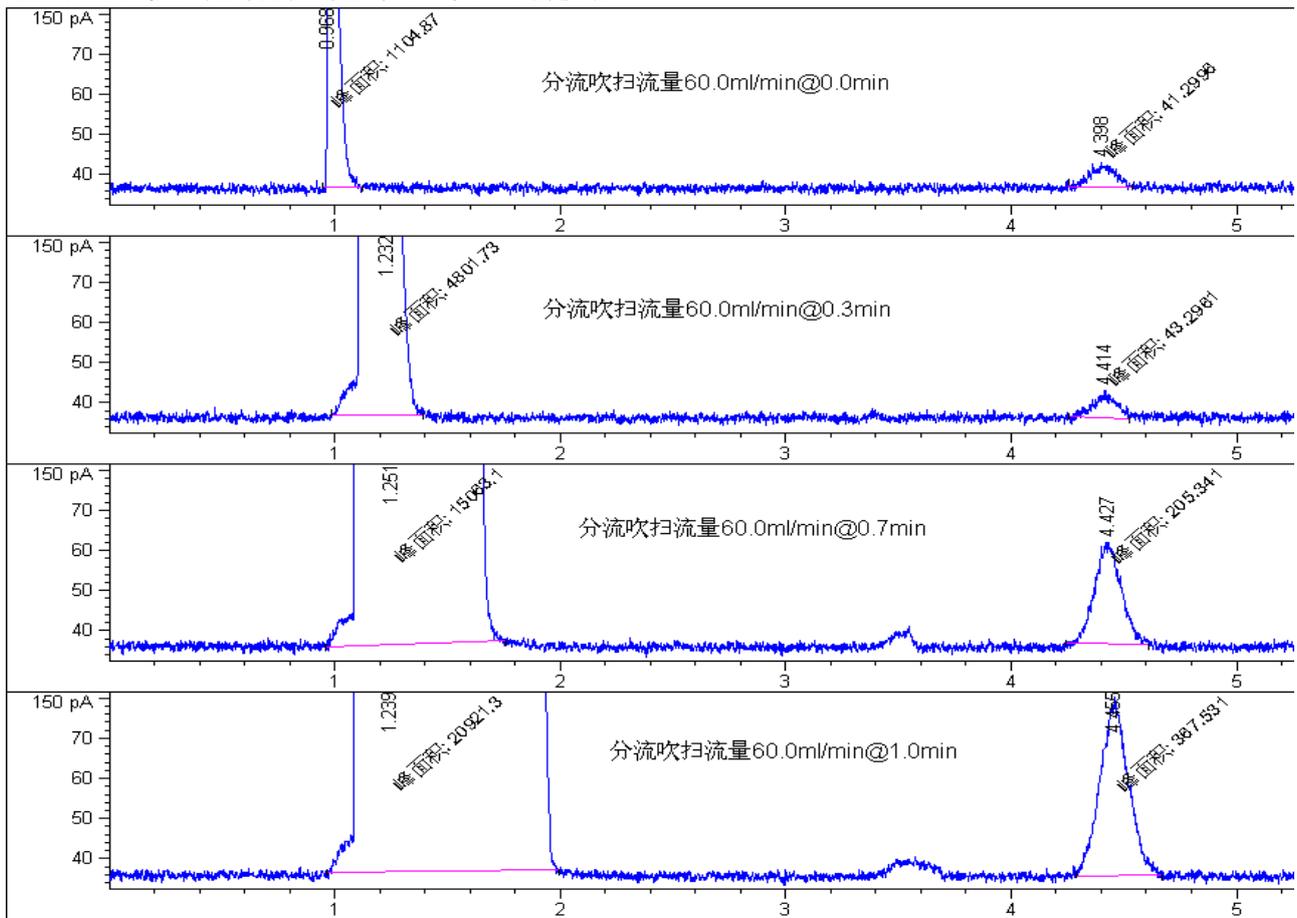


图 1 不同吹扫时间下马拉硫磷标样色谱图

2.6 氢气与空气流量比的选择^[4,6]

氢气与空气分别是指检测器的燃气与助燃气,它决定了火焰的性质和温度,从而影响灵敏度,最佳氢

气与空气流量比随 FPD 的结构而异,通过实验比较表 5 中的数据,可以发现 H₂:AIR 流量比为 120:100 和 150:110 时测定结果比较接近,如需考虑节约气源,故

选择氢气与空气流量比为 120:100 亦可。

表 5 不同氢气与空气流量比条件下测定值

H ₂ :AIR 流量比 Ratio of H ₂ to AIR	保留时间 retention time	峰面积 peak area	峰高 Peak height
100:80	4.47	287.9	34.2
120:100	4.44	366.3	42.4
150:110	4.46	367.5	44.0

注: 流量单位为: mL/min

2.7 尾吹气流量的选择^[4]

尾吹气的目的是加快峰通过检测器的速度(特别是对于毛细管柱),以使经过检测器中的重新混合之后色谱柱分离的峰不丢失。实验发现尾吹气流量同样影响检测灵敏度。经比较测定结果,尾吹流量选择 60 mL/min 为宜。

表 6 不同尾吹气流量下测定值

尾吹流量 make-up flow	保留时间 retention time	峰面积 peak area	峰高 peak height
30 mL/min	4.45	278.1	32.7
45 mL/min	4.44	332.6	38.6
60 mL/min	4.46	367.5	44.0

2.8 精密度试验

为检验所选择的最优化色谱条件的重复性,特选择相同浓度的马拉硫磷标样在相同色谱条件下重复测定 5 次,数据经统计分析(表 7),证明定性及定量指标的精密度都达到了色谱分析的要求。

3 小结

综上所述,对保留时间影响最大的是柱箱温度、载气流量(柱流量)和吹扫时间,其他条件对保留时间影响不大,而对检测灵敏度(峰高和峰面积)的影响因素较多,通过上述实验笔者认为,在色谱分析中,慎重选择色谱分离条件至关重要,需要经过反复实验

才能得到最优化色谱条件。通过本实验研究,证明了我们选择的色谱条件完全满足粮食卫生标准规定的马拉硫磷残留限量标准的检测要求。

表 7 最优化色谱条件下测定值

测定次数 determination times	保留时间 retention time	峰面积 peak area	峰高 peak height
1	4.45	368.1	44.5
2	4.46	364.9	42.6
3	4.43	367.6	44.1
4	4.43	367.8	44.1
5	4.44	369.1	44.8
6	4.45	367.7	44.2
平均值	4.44	367.5	44.0
标准差	0.012	1.40	0.76
相对标准偏差%	0.27	0.38	1.73

参考文献

(上接第 102 页)

- [8] Smilanick J L, Denis-Arrue R. Control of green mold of lemons with *Pseudononas specie*[J]. Plant Dis, 1998, 76: 481-485.
- [9] Zahavi T, Cohen L, Weiss B, et al. Biological control of Botrytids, Aspergillus and Rhizopus rots on table and wine grapes in Israel [J]. Plant Dis, 1999,9:839-843.
- [10] 张红印, 蒋益虹, 郑晓冬, 等. 酵母菌对果蔬采后病害防治的研究进展[J]. 农业工程学报, 2003, 19 (4): 23-27.
- [11] Roberts R G. Postharvest biological control of gray mold of apple by *Cryptococcus laurentii*. Phytopathol, 1990, 80: 526.

- [1] 国标 GB/T5009.20-2003,粮、菜、油中有机磷农药残留量的测定
- [2] 汪正范. 色谱定性定量[M]. 北京: 化学工业出版社, 2000. 127
- [3] 李飞. 色谱分离工作条件的优化原则[J]. 环境科学与技术, 2003, 26:18~19
- [4] 何华, 倪坤仪. 现代色谱分析[M]. 化学工业出版社, 2004. 143-147, 159-162
- [5] GB2715-81 粮食卫生标准
- [6] 吴烈钧. 气相色谱检测方法[M]. 北京: 化学工业出版社, 2000, 185~229
- [7] 刘虎威. 气相色谱方法与应用[M]. 北京: 化学工业出版社, 2000
- [8] 杨曼君. 毛细管气相色谱法测定有机磷农药多残留最佳条件选择[J]. 农药科学与管理, 1994, 4: 20~22
- [12] 刘海波, 田世平, 秦国政, 等. 罗伦隐球酵母对葡萄采后病害的拮抗效果[J]. 中国农业科学, 2002, 35 (7): 831-835
- [13] Wisniewski M, Biles C, Droby S, et al. Mode of action of the postharvest biocontrol yeast, *Pichia guiliienn ondii*. I. Characterization of the attachment to *Botrytis cinerea* [J]. Physiological and Molecular Plant Pathol, 1991, 39:245-258.
- [14] Droby S, Chalutz E. Mode of action of biocontrol agents for postharvest diseases. [A]. Wilson C L, Wisniewski E. Biological Control of Postharvest Diseases of Fruits and Vegetables-Theory and Practice[C]. Boca Raton FL: CRC Press, 1994 63-75.