

气相色谱法测定有机磷农药残留的常见问题探讨

冯丽丽 胡晓芳 于晓娟 张文英

(上海交通大学环境科学与工程学院,上海 200240)

摘要: 针对气相色谱法测定有机磷农药残留过程中常见的基线噪声大、活性位点吸附、热分解和基质效应等4个问题,从气相色谱仪的结构和有机磷农药的性质出发,探讨了解决办法。提出从气路故障、检测器、外部干扰等3个方面排查,降低基线噪声;正确使用玻璃衬管和色谱柱,消除活性位点;合理设置进样口和检测器温度,防止发生热分解现象;采用基质净化、基质匹配校准及加入分析保护剂的方法,避免基质效应。

关键词: 有机磷农药;气相色谱法;基线噪声;活性位点;热分解;基质效应

中图分类号: O657.7⁺1

文献标识码: B

文章编号: 1006-2009(2013)03-0047-04

Research on Some Problems in Determination of Organophosphorus Pesticide by Gas Chromatography

FENG Li-li, HU Xiao-fang, YU Xiao-juan, ZHANG Wen-ying

(School of Environmental Science and Engineering Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200240, China)

Abstract: According to the structure of gas chromatograph and properties of organophosphorus pesticide, the solutions to common problems in determination of organophosphorus pesticide by gas chromatography, as high baseline noise, adsorption on active points, thermal decomposition and matrix-induced response enhancement were studied. We suggested checking gas path fault, detector and external disturbance to reduce baseline noise; using glass insert and column correctly to eliminate active points; setting the temperature of injector and detector reasonably to prevent thermal decomposition; adopting matrix simplification procedures, matrix-matched calibration standards and analyte protectants to avoid matrix-induced response enhancement.

Key words: Organophosphorus pesticide; Gas chromatography; Baseline noise; Active points; Thermal decomposition; Matrix-induced response enhancement

有机磷农药作为一种高效广谱杀虫剂,在蔬菜、水果杀虫剂中占据了重要地位,至今仍是世界上生产和使用最多的农药品种^[1]。因其毒性强,会在蔬果、土壤中残留,对人类健康造成的负面影响也日益暴露^[2]。因此,加强有机磷农药残留监测,是保障人类健康、安全的重要措施。

有机磷农药残留分析既需要精细的操作手段,又需要高灵敏度的痕量检测技术。20世纪60年代后,气相色谱技术得到飞速发展,高灵敏度的检测器开始应用,解决了有机磷农药残留难以检测的诸多问题^[3]。在现阶段,气相色谱仍然是有机磷农药残留分析的主要手段^[4-5],然而在分析过程中经常会出现各种问题,影响测试工作的正常进行。

因此,迅速、准确地判断故障原因并及时排除,是分析者经常面临和急需解决的问题。今结合气相色谱仪在有机磷农药检测过程中经常出现的问题,探讨解决的办法。

1 基线噪声大

有机磷农药残留分析常使用高灵敏度、高选择性的火焰光度检测器(FPD),对含磷有机化合物特别敏感,但经常出现基线噪声过大的问题,除表明仪器不稳定外,还给测定微量组分造成困难。经验

收稿日期:2012-05-14;修订日期:2013-04-19

作者简介:冯丽丽(1980—),女,江苏南通人,实验师,硕士,从事有机污染物分析工作。

表明,引起基线噪声大的原因可分为气路故障、检测器因素、外部干扰等3类。

1.1 气体故障引起的噪声及排除

当含磷化合物在富氢焰 [$q_V(\text{H}_2) : q_V(\text{O}_2) > 3:1$]中燃烧时,伴有化学发光效应,分别发射出480 nm ~ 600 nm 一系列特征波长光,其中526 nm 为含磷化合物的特征波长。FPD 的噪声除来自仪器自身的固有噪声外,还来源于火焰操作条件的选择。当火焰不稳定时,基流和噪声也会增大。

FPD 对氧气和氢气比例的要求比较严格,最好通过试验确定其最优化比例,而不是照搬说明书或者文献中的数据。可以固定空气流量,逐步改变氢气流量,每次改变比例,待信号稳定60 min 后测定每种有机磷农药的信噪比。根据所得数据,选择合适的流量配比,可获得最大的灵敏度和理想的基线。气源压力过小或者压力波动,也会影响基线,此时应考虑更换气源以增加气阻。如果调节气路流量比后,基线无明显好转,或各气路无法调至最佳,则应考虑其他影响因素。此外,必须对进入检测器的气体(氮气、氢气和空气)采取干燥、净化处理,否则会由于气体不纯而导致基线噪声增大。使用钢瓶气体的用户应保证氮气、氢气和空气的纯度不低于99.999%;使用气体发生器的用户必须保证其输出纯度不低于99.999%,并及时更换硅胶。

1.2 检测器引起的噪声及排除

在正常操作中,燃烧室及相关联部分会受到固定液流失、硅烷化试剂、高沸点物质及被玷污的冷凝水污染,若未能及时清理,则不仅噪声增大,有时还会影响选择性。石英窗、透镜、滤光片和光电倍增管的阴极等,在拆装时应避免用手直接接触。为保证检测器不受水分影响,必须在点火前对FPD 加热,温度控制在110 °C ~ 120 °C 之间,使水分完全蒸发。这样不仅有利于点火,还可以防止燃烧产物冷凝,避免产生干扰信号。

1.3 外部干扰引起的噪声及排除

电信号干扰是基线噪声大的重要原因。检查仪器所处的环境中是否尘埃太多,检测器出口是否有强风吹过,检测器附近是否有强静电场存在,以及仪器工作台是否有强烈振动。在电源电压不稳定的情况下,应配备稳压器。

2 活性位点吸附

在有机磷农药残留分析中,进样不出峰或峰信

号较弱的现象常有发生,大多是因为某些有机磷农药如乙酰甲胺磷、氧乐果、久效磷等极性很强,或容易在污染的系统中共存。当分析系统存在活性位点时,此类有机磷农药容易在活性位点被吸附或分解,导致分析物从进样口进入检测器的传输量减少,检测信号减弱。当出现该问题时,必须消除系统的活性位点。

2.1 玻璃衬管

玻璃衬管的作用之一是阻止样品中的难挥发性物质进入色谱柱产生污染,同时衬管在使用过程中可能获得一定的活性,并且随着进样增多,活性会增加。因此,在进样前应检查衬管是否被污染,若污染严重则需清洗,或更换新的不分流衬管。可用丙酮擦洗衬管,一些难以清除的污垢可用铬酸洗液浸泡,待污垢去除后冲洗干净并烘干。清洗会导致衬管的钝化层消失,暴露表面的硅醇基或金属离子,增加衬管的活性位点,导致有机磷农药易被吸附。因此,还需对衬管钝化即硅烷化。将烘干后的衬管放入含10% 二甲基二氯硅烷的甲苯溶液中,浸泡一夜后取出,用甲醇洗二三次,浸泡1 h 左右,取出烘干。当换用新的衬管时,也应确认是否为硅烷化的衬管,普通衬管应硅烷化后再使用。同理,检查玻璃棉是否经过钝化,普通的玻璃棉也应硅烷化处理。待进样系统排查完毕,需多进几针浓度相对较高的标准溶液,以填补活性位点。

2.2 色谱柱

吸附活性位点除了缘于玻璃衬管表面的硅醇基或金属离子之外,还可能由前一次进样的难挥发性物质或基质组分热分解产物沉积于色谱柱中所产生,导致有机磷农药被吸附。因此,可先将色谱柱老化,如果还不能出峰,则将连接进样口的色谱柱截去一段(大约半圈长),或更换新柱。当仪器放置在潮湿环境中长时间不用时,应将色谱柱卸下,置于干燥器内存放。

3 热分解

很多有机磷农药如辛硫磷、杀螟松、水杨硫磷等遇热不稳定,在一定的温度下会发生热分解,导致色谱峰信号减弱或重现性差。在设置色谱条件时,应注意进样口和检测器温度。进样口温度的下限是保证待测组分在瞬间不分流时气化,上限是不造成样品分解^[6]。至于检测器温度设置,一方面应避免有机磷农药热分解;另一方面应避免样品中

的某些基质组分在检测器中逐渐冷凝并累积,产生活性位点,影响后续检测的灵敏度。常用的解决办法是适当提高检测器的温度,以减少或消除样品室的冷凝现象,同时不造成样品分解。一般来说,FPD的温度不应超过250℃。

4 基质效应

通常,相同浓度的农药在基质溶液中的色谱响应比在纯溶剂中高。Erney等^[7-8]将这种现象归因于样品基质减少了气化过程中热不稳定农药的分解,并且屏蔽了进样口的活性位点,从而减少了极性农药在活性位点的吸附,减缓解析速度,增加待分析农药从进样口向色谱柱的传输量。该现象被称之为基质诱导响应增强效应,简称基质效应。易受基质效应影响的农药常表现为热不稳定,或在进样口的吸附作用较大。因此,在检测中应尽量避免基质效应,否则会影响数据的重复性,导致错误的判断和结论。

4.1 基质净化

基质净化不充分或处理过程不当,不仅会降低样品的分析效率,还将增加仪器的维护频率。在农药残留分析中,样品制备通常包括从样品基质中提取、分离组分,再通过液液萃取^[9-11]、凝胶渗透色谱^[12-13]、吸附色谱^[14-17]、固相萃取^[18-23]等方法净化基质。通过这些方法得到的样品提取液能够满足气相色谱分析的要求,但不能完全抑制基质效应。因此,基质净化不能完全解决基质效应问题。

4.2 基质匹配校准

目前,最实际的解决基质效应的方法是利用不含有有机磷农药的空白基质匹配标准溶液校准,同等程度地补偿标准溶液和样品溶液中农药的响应^[9-10]。研究表明,基质匹配校准法与纯溶剂校准法相比,前者可以获得更可靠的回收率^[17]。Gillespie等^[18]利用该方法测定有机磷农药残留,回收率为80%~103%。美国官方实验室在农药残留检测中长期使用基质匹配校准法^[19-24],欧盟也推荐使用该方法^[25]。

基质效应与基质类型有很大关系,一种可用于校准所有样品基质效应的标准物质或可通用的基质,对基质校准法获得准确的结果非常有意义。有研究建议,将黄瓜和西瓜分别作为蔬菜和水果的通用基质^[26]。混合物通用基质已应用于几类常规食品的检测^[19-27],如美国FDA使用胡萝卜(代表根

类作物)、草莓(代表高含糖量作物)和莴苣(代表高叶绿素作物)作为混合通用基质^[19]。在准确性要求不是很高的日常农药残留快速筛选中,通用基质校准法完全可以满足检测要求^[28]。

4.3 加入分析保护剂

分析保护剂是仿效基质保护作用的单一化合物或简单的混合物^[29-30]。在纯溶剂标准溶液和样品溶液中加入等量的保护剂,能同等程度地补偿标准溶液和样品溶液的基质效应。保护剂有效地与待分析农药竞争衬管中的活性位点,最大限度地提高纯溶剂中农药标准品的响应值,使其达到与基质中农药同等的响应度^[31]。Lehotay等^[32-34]证实,β-乙氧基-1,2-丙二醇、古洛糖酸γ-内酯、山梨醇分别是挥发性农药、半挥发性农药、低挥发性农药合适的保护剂,而使用上述三者的混合物,可以实现对性质差异较大的农药满意定量。

[参考文献]

- [1] 黄海雄,李慧,黄薇,等. 2005年深圳市蔬菜中有机磷农药残留状况[J]. 职业与健康, 2007, 23(14): 1205-1206.
- [2] 王绪卿,林媛真,陈惠京. 稻米中杀虫双残留量测定方法——1. 薄层色谱荧光扫描定量法[J]. 卫生研究, 1986, 15(4): 26-29.
- [3] 仲维科,郝戡,樊耀波,等. 食品农药残留分析进展[J]. 分析化学, 2000, 28(7): 904-910.
- [4] 杨丽莉,姚朝英,纪英. 快速固相萃取法测定食品中的多种有机磷农药残留[J]. 环境监测管理与技术, 2006, 18(1): 23-25.
- [5] 邓延慧. 气相色谱-脉冲火焰光度法检测器测定痕量有机磷农药[J]. 环境监测管理与技术, 2003, 15(3): 24-25.
- [6] 郭岚,谢明勇,鄢爱平,等. GPC-GC-MS对食用植物油中多种类型农药残留的同步测定[J]. 分析测试学报, 2009, 28(1): 67-71.
- [7] ERNEY D R, GILLESPIE A M, GILVYDIS D M. Explanation of the matrix-induced chromatographic response enhancement of organophosphorus pesticides during open tubular column gas chromatography with split less or hot on-column injection and flame photometric detection[J]. Journal of Chromatography A, 1993, 638(1): 57-63.
- [8] HAJLSLOVA J, ZROSTLIKOVA J. Matrix effects in (ultra) trace analysis of pesticide residues in food and biotic matrices[J]. Journal of Chromatography A, 2003, 1000(1-2): 181-197.
- [9] LIAPIS K S, APLADA-SARLIS P, KYRIAKIDIS N V. Rapid multi-residue method for the determination of azinphos methyl, bromopropylate, chlorpyrifos, dimethoate, parathion methyl and phosalone in apricots and peaches by using negative chemical ionization ion trap technology[J]. Journal of Chromatography A, 2003, 996(1-2): 181-187.
- [10] SCHMECK T, WENCLAWIAK B. Sediment matrix induced re-

- sponse enhancement in the gas chromatographic-mass spectrometric quantification of insecticides in four different solvent extracts from ultrasonic and Soxhlet extraction [J]. *Chromatographia*, 2005, 62(3-4): 159-165.
- [11] 吴建伟, 李江. 水中有机磷农药分析前处理方法探讨[J]. *环境监测管理与技术* 2009, 21(2): 65-67.
- [12] HAJŠLOVA J, HOLADOVA K, KOCOUREK V. Matrix-induced effects: a critical point in the gas chromatographic analysis of pesticide residues [J]. *Journal of Chromatography A*, 1998, 800(2): 283-295.
- [13] UENO E, OSHIMA H, SALTO I. Multiresidue analysis of pesticides in vegetables and fruits by gas chromatography/mass spectrometry after gel permeation chromatography and graphitized carbon column clean up [J]. *Journal of AOAC International* 2004, 87(4): 1003-1015.
- [14] JIMENEZ J J, BERNAL J L, NOZAL M J. Gas chromatography with electron-capture and nitrogen-phosphorus detection in the analysis of pesticides in honey after elution from a Florisil column: Influence of the honey matrix on the quantitative results [J]. *Journal of Chromatography A*, 1998, 823(1-2): 381-387.
- [15] BERNAL J L, DEL NOZAL M J, JIMENEZ J J. Matrix effects in the determination of acaricides and fungicides in must by gas chromatography with electron-capture and nitrogen-phosphorus detection [J]. *Journal of Chromatography A*, 1997, 778(1-2): 111-117.
- [16] KUMAR A, NADDA G, SHANKER A. Determination of chlorpyrifos 20% EC (Dursban 20 EC) in scented rose and its products [J]. *Journal of Chromatography A*, 2004, 1050(2): 193-199.
- [17] MENKISSOGLU-SPIROUDI U, FOTOPOULOU A. Matrix effect in gas chromatographic determination of insecticides and fungicides in vegetables [J]. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry* 2004, 84(1-3): 15-27.
- [18] GILLESPIE A M, DALY S L, GILVYDIS D M. Multicolumn solid-phase extraction cleanup of organophosphorus and organochlorine pesticide residues in vegetable oils and butterfat [J]. *Journal of AOAC International*, 1995, 78: 431-437.
- [19] MERCER G E. Determination of 112 halogenated pesticides using gas chromatography/mass spectrometry with selected ion monitoring [J]. *Journal of AOAC International*, 2005, 88(5): 1452-1462.
- [20] SCHENCK F J, LEHOTAY S J. Does further clean-up reduce the matrix enhancement effect in gas chromatographic analysis of pesticide residues in food [J]. *Journal of Chromatography A*, 2000, 868(1): 51-61.
- [21] PODHOMIAK L V, NEGRON J F, GRIFFITH F D. Gas chromatography with pulsed flame photometric detection multiresidue method for organophosphate pesticide and metabolite residues at parts-per-billion level in representative commodities of fruit and vegetable crop groups [J]. *Journal of AOAC International* 2001, 84: 873-890.
- [22] SCHENCK F J, LEHOTAY S J, VEGA V. Comparison of solid-phase extraction sorbents for cleanup in pesticide residue analysis of fresh fruits and vegetables [J]. *Journal of Separation Science*, 2002, 25(24): 883-890.
- [23] ANASTASSIADES M, LEHOTAY S J, STAINBAHER D. Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and "dispersive solid-phase extraction" for the determination of pesticide residues in produce [J]. *Journal of AOAC International* 2003, 86(2): 412-431.
- [24] LEHOTAY S J, SCHANER A, NEMOTO S. Determination of pesticide residues in nonfatty foods by supercritical fluid extraction and gas chromatography/mass spectrometry: Collaborative study [J]. *Journal of AOAC International* 2002, 85(5): 1148-1166.
- [25] HILL A. Quality control procedures for pesticide residues analysis—guidelines for residue monitoring in the European Union, Document 7826/V₁/97 [M]. Brussels: European Commission, 1997.
- [26] MARTINEZ VIDAL J L, ARREBOLA F J. Validation of a gas chromatographic-tandem mass spectrometric method for analysis of pesticide residues in six food commodities. Selection of a reference matrix for calibration [J]. *Chromatographia* 2004, 59: 321-327.
- [27] BARWICK V J, ELLISON S L R, LACEY S J. Evaluation of a solid phase extraction procedure for the determination of pesticide residues in foodstuffs [J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 1999, 79(9): 1190-1196.
- [28] KOCOUREK V, HAJŠLOVA J, HOLADOVA K. Stability of pesticides in plant extracts used as calibrants in the gas chromatographic analysis of residues [J]. *Journal of Chromatography A*, 1998, 800(2): 283-295.
- [29] LEPAGE J T, HEBERT V R, TOMASZEWSKA E M. Determination of acephate in human urine [J]. *Journal of AOAC International* 2005, 88(6): 1788-1792.
- [30] CAJKA T, MASTOVSKA E, LEHOTAY S J. Use of automated direct sample introduction with analyte protectants in the GC-MS analysis of pesticide residues [J]. *Journal of Separation Science*, 2005, 28(9-10): 1048-1060.
- [31] 贺利民, 刘祥国, 曾振灵. 气相色谱分析农药残留的基质效应及其解决办法 [J]. *色谱* 2008, 26(1): 98-104.
- [32] ANASTASSIADES M, MASTOVSKA K, LEHOTAY S J. Evaluation of analyte protectants to improve gas chromatographic analysis of pesticides [J]. *Journal of Chromatography A* 2003, 1015(1-2): 163-184.
- [33] MASTOVSKA K, LEHOTAY S J, ANASTASSIADES M. Combination of analyte protectants to overcome matrix effects in routine GC analysis of pesticide residues in food matrices [J]. *Analytical Chemistry* 2005, 77(24): 8129-8137.
- [34] SANCHEZ-BRUNETE C, ALBERO B, MARTIN G. Determination of pesticide residues by GC-MS using analyte protectants to counteract the matrix effect [J]. *Analytical Sciences*, 2005, 21(11): 1291-1296.

本栏目责任编辑 姚朝英 吴珊