

关键词

全自动固相萃取；气相色谱；有机磷农药

介绍

农药由于其具有高效、速效、方便、适应性广、经济效益显著等特点而被广泛应用于农产品生产、采后保鲜等过程。长期大量地使用农药，在得到效益的同时，也产生了广泛的副作用。有机磷类农药是使用量较大的农药中的一类，作为有机氯类农药的替代品，具有成本低、药效高、品种多、选择性好、防治范围广，在环境中降解快、残留低等诸多优点，被广泛地应用于世界范围。然而有机磷可以通过多种方式进入人体，消化道的摄入是最为普遍的方式，同时有机磷也可以被皮肤、粘膜、呼吸道所吸收，在有机磷中毒以后使酶不能起催化乙酰胆碱水解的作用，导致组织中能使神经过度兴奋的乙酰胆碱过量蓄积。近年来，频繁爆出饮料中农药超标的问题，这说明对饮料中的农药进行监测同样非常有必要的。而有机磷作为农药中使用量较大的一类，必须建立一套完善的检测方法对饮料中的有机磷进行检测。为此，我们以GB 23200.40-2016为基础，结合睿科全自动前处理设备建立了一套快速、高效、准确的可乐中有机磷的测定方法。该方法可实现自动标准曲线配制和自动固相萃取，节约人力成本的同时改善实验结果。

1. 仪器、试剂以及耗材

1.1 仪器

Raykol MPE 系列高通量真空平行浓缩仪

Raykol Auto EVA 80 高通量全自动平行浓缩仪

Raykol Fotector Plus 高通量全自动固相萃取仪

Raykol AP 200 全自动液体样品处理工作站

Agilent 7890B 气相色谱仪，配备火焰光度检测器

1.2 耗材

HLB 固相萃取柱 (RayCure HLB, 60 mg/3 mL)，货号：RC-204-36473

1.3 试剂

乙酸乙酯 (HPLC)、正己烷 (HPLC)、甲醇 (HPLC)、氯化钠 (AR)、无水硫酸钠 (AR)；

甲醇-水溶液 (5+95, V/V)：量取 5 mL 甲醇与 95 mL 水混合。

甲醇-水溶液 (10+90, V/V)：量取 10 mL 甲醇与 90 mL 水混合。

氢氧化钠溶液 (1 mol/L)：称 20 g 氢氧化钠，用水溶解并定容至 500 mL。

标准品：3 种有机磷农药标准溶液，含量 $\geq 98.0\%$

2. 标准曲线配制

有机磷混合标准中间溶液：使用 Auto Prep 200 全自动液体样品处理工作站的配液功能吸取适量毒死蜱、马拉硫磷、对硫磷标准储备溶液于 1.5 mL 色谱瓶中，用乙酸乙酯定容至 1 mL，各种有机磷农药标准溶液的浓度为 500 $\mu\text{g/L}$ 。

有机磷混合标准工作液：以 500 $\mu\text{g/L}$ 的有机磷混合标准溶液为源液，用乙酸乙酯作定容液，于室温平衡后用 AP200 的直接稀释功能配制成浓度为 10、20、30、50、80、100 $\mu\text{g/L}$ 的系列标准工作溶液，现用现配，也可根据仪器灵敏度或目标物浓度配制。



图-1 Auto Prep 200 的氯吡脉标准溶液配制方法

3. 样品前处理

3.1 样品制备

取可乐样品于烧杯中,放置 60 min,并用玻璃棒搅拌排气。准确称取 150 g(精确至 0.01 g)可乐样品,加入 1 mol/L 的氢氧化钠溶液调节溶液 pH 值至 7 左右。将调节至中性的可乐样品转移至 500 mL 分液漏斗中,加入 15 g 氯化钠和 100 mL 乙酸乙酯,剧烈振荡 2 min 并不时排气,静置 10 min 后,取上层有机相,过预先填充的无水硫酸钠柱(在玻璃砂芯漏斗中装入 15 g 左右无水硫酸钠,并用 20 mL 乙酸乙酯淋洗),收集于 500 mL 圆底烧瓶中。在分液漏斗中分两次加入 200mL 乙酸乙酯,每次 100 mL,重复以上提取步骤,合并提取液于 40°C 水浴下旋转蒸发至 3 mL ~ 4 mL,转移至 15 mL 离心管中,用 9mL 正己烷分三次洗涤圆底烧瓶,合并洗涤液于 15mL 离心管中,40°C 水浴下吹氮至近干。

3.2 提取液净化

HLB 固相萃取柱使用前分别用 3 mL 乙酸乙酯,6mL 甲醇和 6 mL 水活化,保持柱体湿润。将 5.1 中的提取液用 5 mL 10% 甲醇水溶液溶解,以 2mL/min 速率过 HLB 固相萃取柱,弃去流出液,再用 10 mL 5% 甲醇水溶液润洗离心管并上 HLB 柱,弃去从 HLB 柱流出的润洗液,氮气吹干小柱 10 min。用 10 mL 乙酸乙酯进行洗脱,收集洗脱液于 15 mL 离心管中,加入 3 g 无水硫酸钠,振荡 3 min,5000 r/min 条件下离心 2 min,将溶液转移至 EVA 80 高通量真空平行浓缩仪中,于 40°C 水浴中吹氮浓缩至近干,用乙酸乙酯定容至 1.0 mL,供 GC-SPD 测定。具体固相萃取方法见图 2。

序号	命令	溶剂	排出	流速 (mL/min)	体积 (mL)	时间 (min)
1	清洗样品通道	H ₂ O				2.8
2	活化	CH ₃ CO ₂ C ₂ H ₅	有机废液	3	3	1.5
3	活化	CH ₃ OH	有机废液	3	6	2.5
4	活化	H ₂ O	废水	3	6	2.5
5	上样		有机废液	2	5	3.1
6	清洗样品瓶	5%甲醇水	有机废液	60	10	6.3
7	吹干					10
8	洗脱	CH ₃ CO ₂ C ₂ H ₅	收集	2	10	5.8
9	气推		收集	30	10	1.1
10	结束					

图2 Fotector Plus 可乐中有机磷的固相萃取方法

4. 检测条件

4.1 气相色谱条件

柱子	DB-1701 石英毛细管柱：30 m×0.32 mm（内径），膜厚 0.25 μm
色谱柱温度	90℃（1 min） ^{30℃/min} 210℃（8 min） ^{10℃/min} 240℃，postrun: 280℃（5min）
进样口温度	250℃
检测器温度	250℃
载气	氮气，纯度 99.999 %，恒压 0.071Mpa
进样量	1 μL
进样方式	不分流进样，1.0 min 后打开分流阀，吹扫流量 50 mL/min
检测器	FPD

表-1 气相色谱串联质谱检测条件

4.2 MRM 参数

化合物	定量离子对（碰撞能量 V、 锥孔电压 V）	定性离子对（碰撞能量 V、 锥孔电压 V）
氯吡脞	248.0>129.0 (16, 20)	248.0>93.0 (34, 20)

表-2 氯吡脞串联质谱检测参数

5. 结果与讨论

为了验证该方法的回收率，本实验向样品 (150 g) 中加入上述标准品 (30 μL, 1 mg/L) 进行回收验证 (n=3)。数据如表 2 所示：四种目标化合物的加标回收率均在 80.6%~90.7% 之间，RSD 值控制在 5% 以内。说明该方法能够很好地运用于可乐中有机磷的检测。

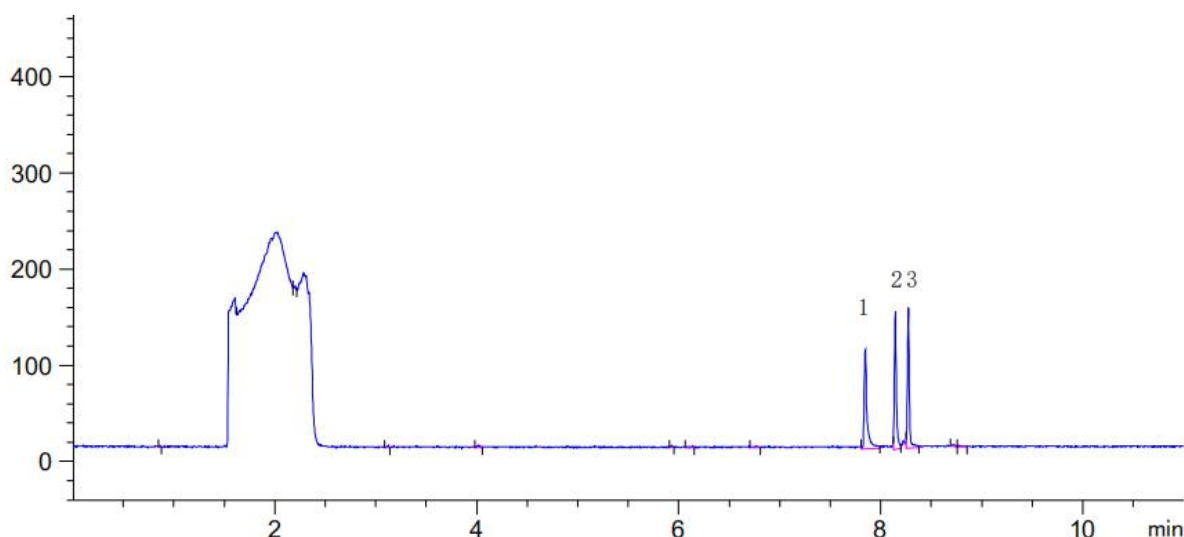


图 3 50µg/L 的有机磷农药标准色谱图

1: 毒死蜱 2: 马拉硫磷 3: 对硫磷

化合物 (Compound)	回收率 (%)	回收率 (%)	回收率 (%)	平均回收率	RSD(%)
	样品-1 Sample-1	样品-2 Sample-2	样品-3 Sample-3	Average Recoveries(%)	
毒死蜱	85.6	90.7	88.5	88.3	2.6
马拉硫磷	80.6	84.3	82.4	82.4	1.9
对硫磷	81.7	89.6	90.4	87.2	4.8

表 2. 可乐中有机磷的加标回收率及 RSD 值(0.2 µg/kg)

6. 总结

本文以 GB 23200.40-2016 为基础，结合睿科全自动前处理设备建立了一套快速、高效、准确的可乐中有机磷的测定方法。标准曲线的配置使用睿科 AP 200 全自动液体样品处理工作站，可实现混标制备、标准曲线制备、样品添加和分液等液体样品处理功能，全程无需人员值守，仪器程序化运行可以有效避免人为误差，保证曲线的精密性和准确性。

睿科 MPE 真空平行浓缩仪为样品处理过程提供了极大的便利，大体积的样品体积浓缩，通过真空、水浴辅助震荡，使得浓缩时间更短，浓缩效果更加稳定。

本方法使用睿科 Fotector Plus 高通量全自动固相萃取仪可实现净化过程的自动化，从活化到上样、洗脱一步到位；最多一天能够处理 180 个样品，高效便捷地完成固相萃取过程。同时搭配睿科 Auto EVA 80 高通量全自动平行浓缩仪进行浓缩，二者的样品架可兼容使用，无需进行样品转移，操作连贯简便，避免样品的损失。有机磷在氮吹浓缩时不可吹干，否则会极大的影响实验效果。而采用 Auto EVA 80 进行氮吹浓缩，首先氮吹针随着浓缩页面下降

而下降，提高浓缩效率的同时，节约氮气；其次，可视化的窗口，可以随时随地观察浓缩进度，而保证样品不被过度浓缩。



高通量全自动固相萃取仪
净化



全自动平行浓缩仪
浓缩



全自动液体样品处理工
作站
标曲配制



系列高通量真空平行浓
缩仪
浓缩



睿科集团股份有限公司
RayKol Group Corp., Ltd.

智能化、自动化实验室整体解决方案

网址: www.raykol.com

电话: 400-885-1816

邮箱: info@raykol.com



本文中的信息、说明和技术指标如有变更,恕不另行通知

© 睿科集团股份有限公司

2021年9月版