

# 基于 CSR 大体积进样技术 GC-FPD 测定蜂蜜中有机磷农药残留

曾海龙 余翀天

赛默飞世尔科技（中国）有限公司

## 关键词

CSR 大体积进样技术；GC-FPD

## 目标

本文基于《SN/T 1593-2005 进出口蜂蜜中五种有机磷农药残留量检验方法 气相色谱法》，结合赛默飞独有的 CSR 新型大体积进样技术，建立了蜂蜜中 9 种有机磷农药残留检测方法，无需浓缩，直接进样，进样量达 22 $\mu$ L 左右，并采用 Chromeleon 7 软件进行数据采集和数据处理，方便快捷，既可以简化前处理提高分析效率，又不损失灵敏度。

## 引言

蜂蜜是我国的传统出口商品，由于蜜蜂在采蜜过程中采集了被农药污染的花粉及蜂农使用了有机磷农药，导致蜂蜜中的有机磷农药残留量有可能超标。欧盟在对我国出口蜂蜜的主要安全卫生检测项目中就有对有机磷的检测要求。根据进口国的要求，我国制定残留监控计划要求检测蜂蜜中的多种有机磷，包括敌百虫、皮蝇磷、毒死蜱、马拉硫磷和蝇毒磷，并且规定了严格的最高残留限量，敌百虫为 0.01mg/kg、皮蝇磷为 0.02mg/kg、毒死蜱 0.02mg/kg、马拉硫磷为 0.01mg/kg 和蝇毒磷为 0.02mg/kg。关于蜂蜜的有机磷农药残留检测的标准方法有《GB/T 19426-2006 蜂蜜、果汁和果酒中 497 种农药及相关化学品残留量的测定 气相色谱-质谱法》、《SN/T 1593-2005 进出口蜂蜜中五种有机磷农药残留量检验方法 气相色谱法》和《SN/T 2577-2010 进出口蜂王浆中 11 种有机磷农药残留量的测定 气相色谱法》，上述方法和文献报导的方法都需要浓缩、净化，前处理过程耗时不利于检测效率的提高，并且浓缩过程中会导致部分低沸点农药损失，从而影响准确定量。CSR 大体积进样技术可以解决此类问题，既可以简化前处理提高分析效率，又不损失灵敏度。本文建立的蜂蜜中 9 种有机磷农药残留检测方法，样品经乙



酸乙酯提取，无需净化浓缩，采用 CSR 新型大体积进样技术直接进样，让操作更加方便快捷。

## 仪器

Thermo Scientific™ TRACE 1310 气相色谱仪，配 FPD 检测器，包括：

- 配分流 / 不分流进样口；
- AS/AL1310 自动进样器；
- 50 $\mu$ L 液体进样针（50 $\mu$ L  $\times$  50mm  $\times$  23 锥形、LV 不分流，P/N 36503015）。

Thermo Scientific™ KIT SSL-LV TRC1300 (P/N 19050725)，包括：

- Thermo Scientific™ 预柱（5 m  $\times$  0.32 mm）（P/N 26080010）；
- Thermo Scientific™ 玻璃两通（universal press fit connectors, P/N 35003850）。

Thermo Scientific Dionex Chromeleon™ 7 Version 7.2.1.5833 数据处理系统。

## 耗材

- Thermo Scientific™ 毛细管色谱柱 TG-1701 MS  
(30 m × 0.25 mm × 0.25 μm) (P/N 26090-1420)
- Thermo Scientific™ 不分流衬管 (P/N 453A1925)
- Thermo Scientific™ 低流失进样口隔垫 (P/N 31303233)
- Thermo Scientific™ 气相色谱进样口石墨垫 0.32mm  
(P/N 290VA192)
- Thermo Scientific™ 2mL 进样小瓶 (P/N C4000-88W)
- Thermo Scientific™ 2mL 进样小瓶样品架  
(5 × 10, C4012-25)
- Thermo Scientific™ 10 ~ 100μL 移液器 (JH91538)
- Thermo Scientific™ 100 ~ 1000μL 移液器 (JH91348)

## 试剂与标准品

- 1) 氯化钠：分析纯；
- 2) 乙酸乙酯：色谱纯；
- 3) 丙酮：色谱纯；
- 4) 农药标准物质：敌敌畏、异稻瘟净、毒死蜱、倍硫磷、马拉硫磷、杀螟硫磷、水胺硫磷、丙溴磷和三唑磷 9 中农药标准物质购于农业部环境保护科研测所或德国 Dr.E 公司。

## 标准溶液的制备

准确称取上述标准品（精确至 0.1 mg），用乙酸乙酯（配制有机磷农药）溶解并定容配制成一定浓度的储备液，于 4℃ 冰箱中避光保存。

## 混合标准工作液的制备

取适量标准储备液用乙酸乙酯稀释至浓度为 10 μg/mL 的混合标准工作溶液待用。

## 标准工作曲线溶液的制备

取混合标准液用乙酸乙酯稀释至浓度为 0.002、0.005、0.01、0.02、0.05 μg/mL 系列点，供 GC-SPD 分析。

## 样品制备

称取 5.0 g 蜂蜜样品（精确到 0.01 g）于 50 mL 塑料离心管中，加入 10 mL 蒸馏水，准确加入 20 mL 乙酸乙酯（用于定容），再加入 5g NaCl，于涡旋提取 3 min（期间可借助力上上下下震荡，使得样品和溶剂充分混匀），将离心管放入离心机，4500r/min 离心 5min，取上清液过滤膜，装入进样瓶供配气相色谱仪分析。

## GC-SPD 仪器条件

色谱柱：TG-1701MS (30 m × 0.25 mm × 0.25 μm)；进样口温度：250℃；升温程序：初始温度为 80℃，保持 2 min，以 20℃/min 升至 260℃，保持 10min；载气：氦气（纯度 ≥ 99.999%）；载气流速：0.8 mL/min；进样量：22 μL 左右；

进样方式：不分流进样；检测器基座温度：300℃；池体温度：150℃；空气流量：100 mL/min；氢气流量：70 mL/min。

## 结果与讨论

### CSR 大体积进样原理介绍

溶剂浓缩大体积进样技术（Concurrent Solvent Recondensation, 简称 CSR），即在进样口和分析柱间连接一段空的预柱，且衬管中装填玻璃棉，采用传统的分流不分流进样口，进样口处于恒定的较高温度，自动进样器插入汽化室 5 mm，保持针头部分温度较低，快速注入样品。样品以带状液体的状态离开注射器，被收集在衬管底部的少量玻璃棉上，开始缓慢汽化。由于衬管是一个密闭体系，蒸汽体积迅速膨胀，取代和压缩载气，使得衬管内压力迅速增大，而载气阻止了溶剂蒸汽从汽化室溢出，从而产生了“压力涌浪”效应，迫使溶剂蒸汽转移到低温的预柱上。溶剂蒸汽在柱头上冷凝形成液膜，进一步加速了蒸汽的转移，此时溶剂汽化和冷凝同时发生，使得进样体积不再受汽化体积的限制，从而实现大体积进样，预柱起承载样品的作用。图 1 为 CSR 基本原理图解，图 2 为 CSR 进样过程。

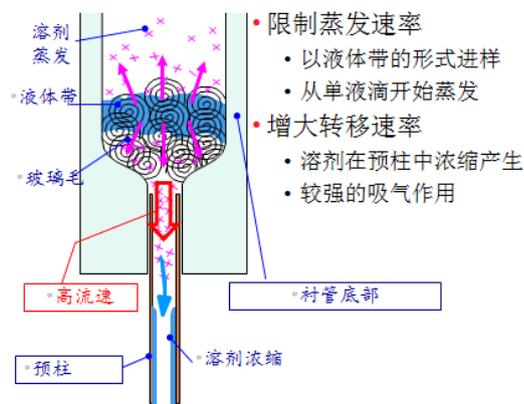


图 1. CSR 基本原理图解

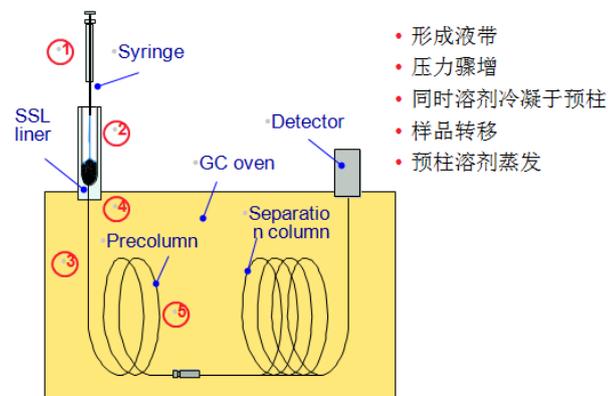


图 2. CSR 进样过程

## CSR 大体积进样技术特点

PTV 进样虽然进样体积可高达 250 $\mu$ L，但是在溶剂蒸发的过程中会造成低沸点化合物的损失；而 OCI 进样虽然不会造成低沸点化合物损失，但由于样品溶液直接注入到色谱柱中，很容易造成色谱柱的污染，导致部分有机磷农药响应偏低、且影响分离。相比，CSR 技术更具有优越性，具备以下三个特点。

### 1) 特点一：显著提高检测灵敏度

CSR 最大进样体积为 50 $\mu$ L，能显著提高检测灵敏度。例如：CSR 大体积进样气相色谱质谱中的应用，如图 3 所示，进样量为 1、2、3、4、5 $\mu$ L 时所得的结果比较，从图中可以得出，随着进样体积的增加，响应值几乎呈线性倍数增加，充分表明增加进样量可以显著提高检测灵敏度。

### 2) 特点二：分析高、低沸点化合物无歧视

如图 4 所示，以正己烷为溶剂，不同环数烷烃的大体积进样分析，进样体积 35 $\mu$ L。从图中可以看出比正己烷溶

剂多两个碳的化合物 C8，并未随溶剂蒸发损失，且高沸点的 C40 具有较好的响应及分析精密度，进一步证明了 CSR 对低沸点和高沸点化合物均无歧视效应。

3) 特点三：简化前处理过程，避免低沸点化合物浓缩时有损失

如图 5 所示，在环境水体中 PAHs 的分析，一般需要浓缩 1000 倍，进样量为 1 $\mu$ L，采用液液萃取和 SPE 小柱富集两种方式均消耗大量溶剂，且费时，在氮吹浓缩过程中容易造成低沸点 PAHs 的损失。因此可以采用类似液液微萃取的方式，只需 1mL 有机溶剂，20mL 水样，无需氮吹浓缩，萃取后可直接进样分析，进样量为 50 $\mu$ L，可达到相同效果，甚至更好，既可以大大减少样品前处理过程，并避免低沸点化合物的损失。同样，在农残分析过程中，如敌百虫、敌敌畏、甲胺磷等低沸点农药在旋转蒸发和氮吹浓缩过程中也容易损失一部分，从而造成结果不准确，因此可以采用 CSR 技术来解决这一问题。

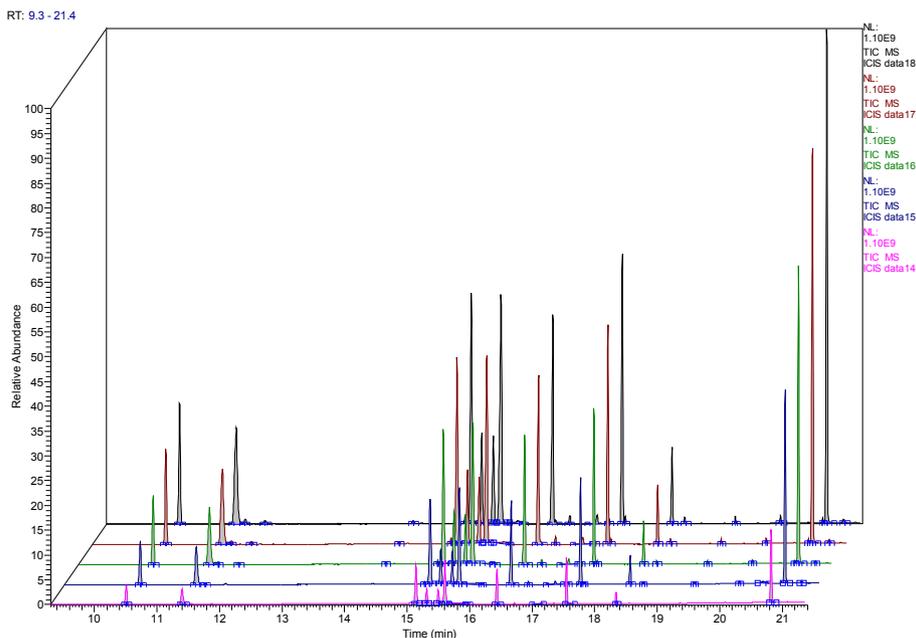


图 3. 不同进样体积结果

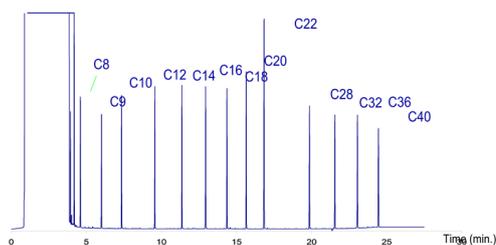


图 4. 低、高沸点化合物无歧视

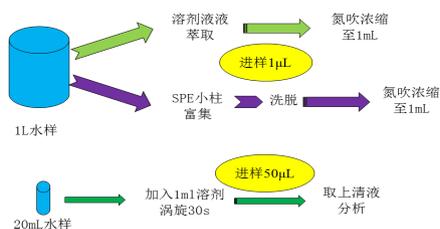


图 5. 简化前处理过程

### 提取溶剂的选择

标准方法采用乙腈提取，由于乙腈毒性大，如果直接进样容易损坏色谱柱，故拟选择乙酸乙酯和丙酮作为提取溶剂，两种溶剂的提取效果比较如下（图 6、7 所示），结果表明：采用乙酸乙酯为提取溶剂，具有提取效率高、峰型好等优点，明显优于丙酮组，并且适合大体积直接进样，因此选择乙酸乙酯作为提取溶剂。

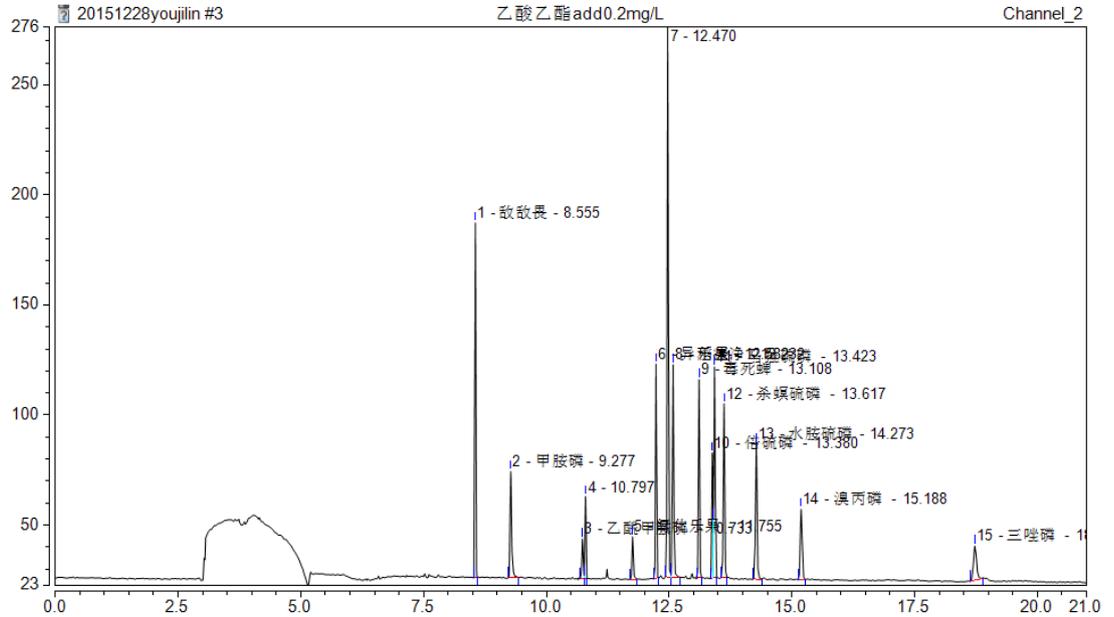


图 6. 乙酸乙酯为提取溶剂

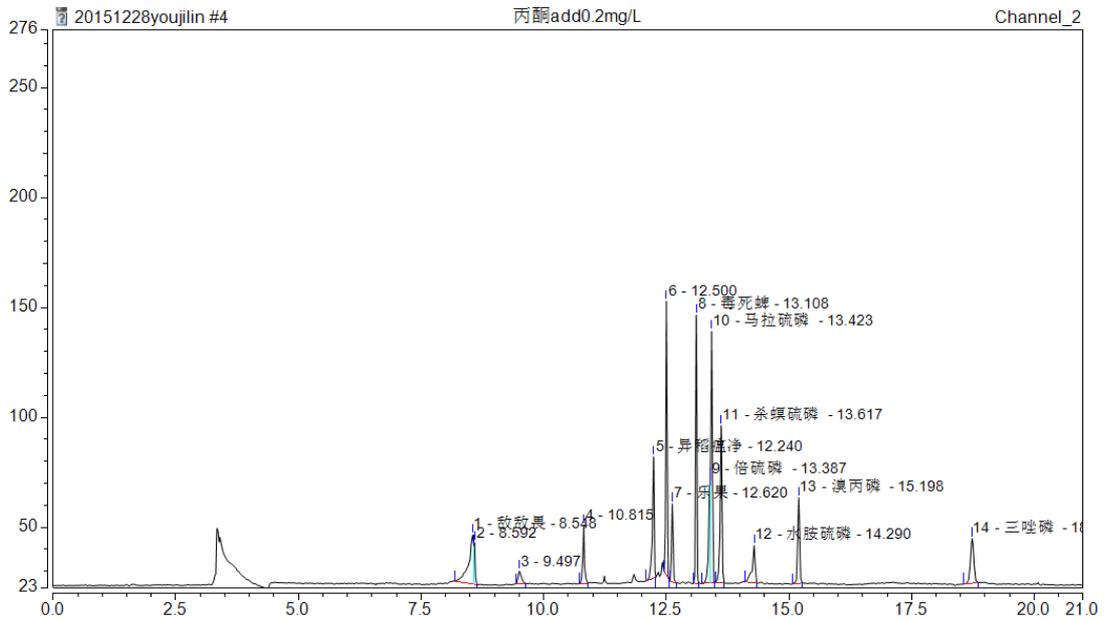


图 7. 丙酮为提取溶剂

## 典型色谱图

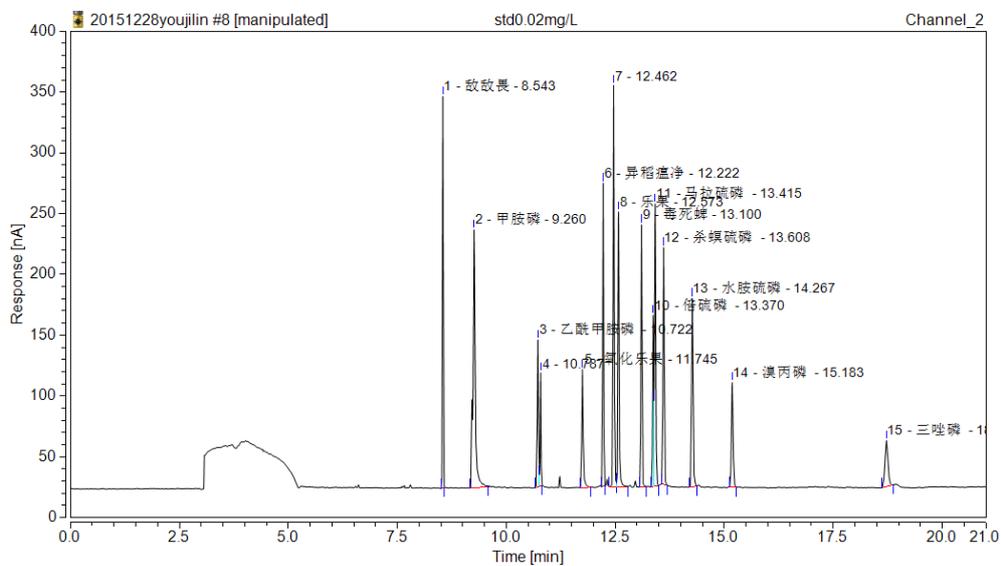


图 8. 标准溶液色谱图

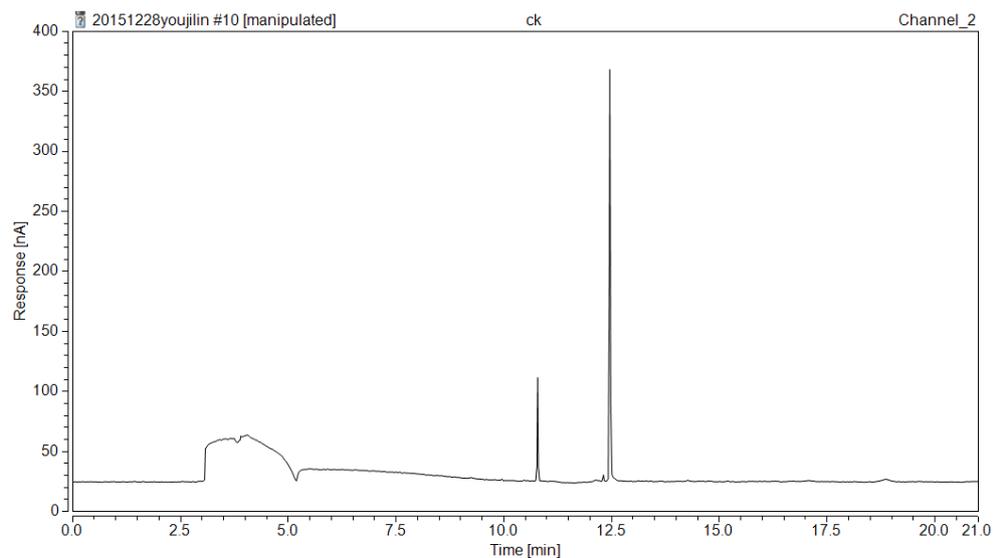


图 9. 空白溶剂色谱图

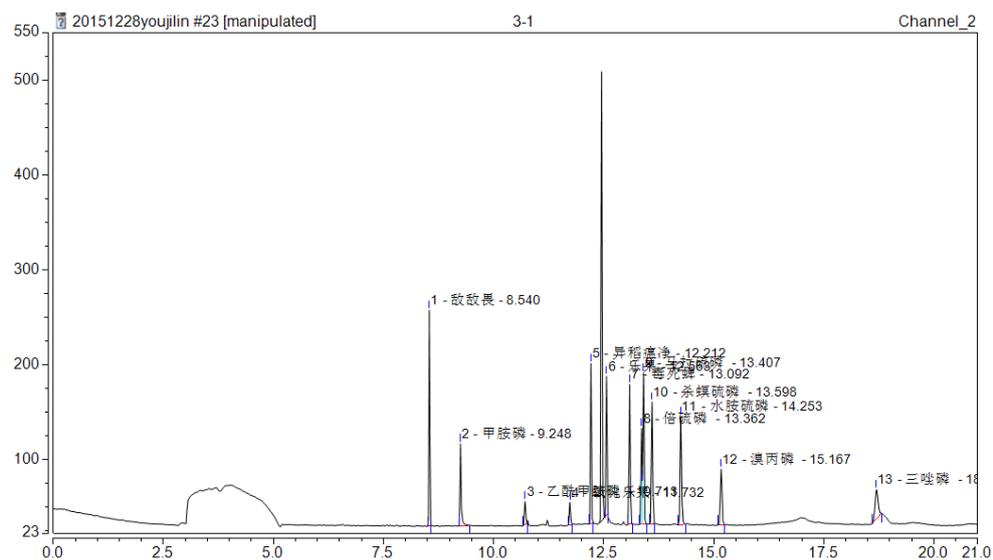


图 10. 样品加标色谱图

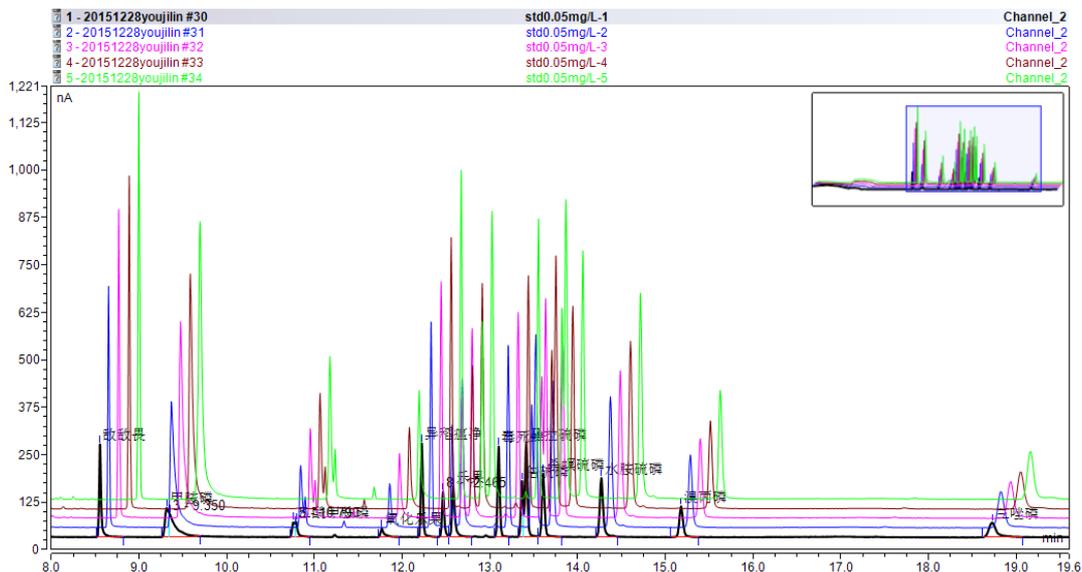


图 11 不同进样量的色谱图

### 保留时间、线性相关系数和定量限

配置标准溶液工作曲线，各浓度分别为：0.002、0.005、0.01、0.02、0.05  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，考察组分的线性。实验结果表明各组分在 0.002 ~ 0.05  $\mu\text{g}/\text{mL}$  浓度范围内，相关系数  $R^2 > 0.9997$ ，线性关系良好，该方法定量限为 0.01  $\text{mg}/\text{kg}$ （见表 1）。

表 1. 保留时间、线性和定量限结果

英文名称	中文名称	保留时间 (min)	CAS 号	线性范围 ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	线性相关系数 $R^2$	定量限 ( $\text{mg}/\text{kg}$ )
Dichlorvos	敌敌畏	8.54	62-73-7	0.002 ~ 0.05	0.9999	0.01
Iprobenfos	异稻瘟净	12.21	26087-47-8	0.002 ~ 0.05	0.9999	0.01
Chlorpyrifos	毒死蜱	13.09	2921-88-2	0.002 ~ 0.05	0.9999	0.01
Fenthion	倍硫磷	13.36	55-38-9	0.002 ~ 0.05	0.9999	0.01
Malathion	马拉硫磷	13.41	121-75-5	0.002 ~ 0.05	0.9998	0.01
Fenitrothion	杀螟硫磷	13.60	122-14-5	0.002 ~ 0.05	1.0000	0.01
Isocarbophos	水胺硫磷	14.25	24353-61-5	0.002 ~ 0.05	0.9999	0.01
Profenofos	丙溴磷	15.17	41198-08-7	0.002 ~ 0.05	0.9999	0.01
Triazophos	三唑磷	18.70	24017-47-8	0.002 ~ 0.05	0.9997	0.01

### 加标回收率及重复性结果

加标回收率实验，添加量分别为 0.05、0.1 和 0.2  $\mu\text{g}/\text{mL}$  三水平进行测试。实验结果表明加标回收率在 54.0 ~ 102.2% 之间，相对标准偏差 (RSD) 在 1.62 ~ 6.14% 之间，重复性良好，基本满足分析检测的要求（表 2）。

表 2. 加标回收及重复性实验结果

化合物名称	添加量 ( $\mu\text{g/mL}$ )	n=6						平均回收率 (%)	相对标准偏差 (RSD)
敌敌畏	0.05	54.0	58.0	56.0	58.0	56.0	56.0	56.3	2.67
	0.1	59.0	59.0	61.0	63.0	64.0	66.0	62.0	4.56
	0.2	67.0	64.0	65.5	68.0	67.0	69.5	66.8	2.87
异稻瘟净	0.05	58.0	62.0	60.0	60.0	62.0	60.0	60.3	2.50
	0.1	61.0	61.0	62.0	65.0	67.0	67.0	63.8	4.48
	0.2	67.0	66.0	66.0	68.5	70.5	73.0	68.5	4.08
毒死蜱	0.05	58.0	64.0	60.0	60.0	64.0	60.0	61.0	4.02
	0.1	64.0	71.0	70.0	69.0	71.0	70.0	69.2	3.82
	0.2	66.5	65.0	64.0	69.5	69.0	71.5	67.6	4.27
倍硫磷	0.05	60.0	64.0	62.0	60.0	62.0	60.0	61.3	2.66
	0.1	60.0	62.0	62.0	68.0	68.0	66.0	64.3	5.35
	0.2	71.0	69.0	68.5	72.0	72.5	78.0	71.8	4.75
马拉硫磷	0.05	62.0	64.0	62.0	62.0	66.0	62.0	63.0	2.66
	0.1	58.0	59.0	59.0	62.0	63.0	62.0	60.5	3.43
	0.2	66.5	65.0	65.5	69.0	70.0	72.5	68.1	4.29
杀螟硫磷	0.05	58.0	60.0	60.0	58.0	62.0	60.0	59.7	2.52
	0.1	54.0	56.0	56.0	60.0	61.0	59.0	57.7	4.74
	0.2	66.5	65.5	64.0	68.0	69.5	72.0	67.6	4.27
水胺硫磷	0.05	56.0	62.0	58.0	56.0	62.0	60.0	59.0	4.67
	0.1	58.0	58.0	61.0	66.0	65.0	66.0	62.3	6.14
	0.2	70.5	68.5	67.5	72.0	71.5	77.0	71.2	4.70
丙溴磷	0.05	54.0	60.0	60.0	56.0	62.0	58.0	58.3	5.05
	0.1	60.0	61.0	63.0	63.0	65.0	66.0	63.0	3.62
	0.2	66.5	66.0	66.5	69.0	69.0	70.5	67.9	2.69
三唑磷	0.05	80.0	84.0	78.0	78.0	76.0	80.0	79.3	3.44
	0.1	102.0	102.0	104.0	105.0	101.0	99.0	102.2	2.09
	0.2	76.0	78.5	76.5	76.5	79.0	76.5	77.2	1.62

## 结论

本文基于《SN/T 1593-2005 进出口蜂蜜中五种有机磷农药残留量检验方法 气相色谱法》，结合赛默飞独有的 CSR 新型大体积进样技术，建立了蜂蜜中 9 种有机磷农药残留检测方法。蜂蜜样品经乙酸乙酯提取，提取液色素很浅，无需净化浓缩，可在普通分流不分流进样口中采用 CSR 新型大体积进样技术直接进样，进样量为 22 $\mu$ L 左右，既可以简化前处理提高分析效率，又不损失灵敏度。实验结果表明各组分在 0.002 ~ 0.05  $\mu$ g/mL 浓度范围内，线性相关系数  $R^2 > 0.9997$ ，线性关系良好，该方法各组分定量限可达 0.01 mg/kg，添加量分别为 0.05、0.1 和 0.2  $\mu$ g/mL 时，回收率在 54.0 ~ 102.2% 之间，相对标准偏差 RSD 在 1.62 ~ 6.14% 之间 (n=6)，重复性良好，基本满足分析检测的要求。

## 参考文献

- [1] 朱青青, 谢文, 丁慧瑛等. 蜂蜜中多种有机磷农药残留量的气相色谱测定 [J]. 理化检验: 化学分册, 2005, 41(7):482-484.
- [2] 周碧青, 张金彪, 陈万灵. 蜂蜜中 8 种有机磷农药残留量的气相色谱法测定 [J]. 福建分析测试, 2012(6):9-12.
- [3] 隋吴彬. 蜂蜜中多种有机磷农药残留量的研究 [J]. 安徽农业科学, 2007(29):9348-9348.
- [4] 金珍, 林竹光, 陈美瑜等. 气相色谱-质谱法分析蜂蜜中的多种农药残留 [J]. 色谱, 2006, 24(5):440-446.
- [5] 谢文, 丁慧瑛, 黄雷芳等. 进出口蜂王浆中 11 种有机磷农药残留量的测定 气相色谱法, SN/T 2577-2010.
- [6] 庞国芳、范春林、刘永明等, 蜂蜜、果汁和果酒中 497 种农药及相关化学品残留量的测定 气相色谱-质谱法, GB/T 19426-2006.
- [7] 谢文, 丁慧瑛, 朱晓雨等, 进出口蜂蜜中五种有机磷农药残留量检验方法 气相色谱法, SN/T 1593-2005.

赛默飞世尔科技（中国）有限公司

免费服务热线：800 810 5118  
400 650 5118 (支持手机用户)

**ThermoFisher**  
SCIENTIFIC