

摘 要

有机污染物对环境和人类健康的影响日益受到公众的关注，为了防治病虫害、确保农作物产量，而施用的多种农药所具有的毒性，成为了食品和环境污染的重要来源之一，对食品中农药残留方法的研究成为了热门课题，研究报道较多；在我国，现行农药质量分析的标准方法多针对单剂农药，而广泛使用的复配农药的分离分析方法研究较少，因此导致农药质量分析方法总体水平不高，而农药的质量及管理直接影响农产品安全，进一步完善和提高农药质量分离分析方法研究，制定农药质量分析方法的一系列新标准，显得日益重要。

采用气相色谱-氢火焰离子化检测器 (GC-FID)、气相色谱-电子轰击电离源-质谱 (GC-EI-MS) 作为检测手段对云南省水稻稻飞虱、小麦条锈病主要用药进行质量分析；按照农业部 2007 年 1 月 1 日规定，农药制剂中不得含有 (甲胺磷、久效磷、对硫磷、甲基对硫磷、磷胺) 等五种有机磷农药，课题对其中 4 种 (甲胺磷、久效磷、对硫磷、甲基对硫磷) 农药的分离分析方法进行研究，考虑到有可能在农药制剂中加入了上述违禁使用的高毒农药，因而建立了水稻稻飞虱、小麦条锈病主要用药及 4 种违禁农药的分析方法，方法通过一次进样，同时完成定性、定量分析，为复配农药的标准方法的制定奠定了一定的基础，也为今后农药质量管理提供一种有效的分析方法。

粮谷试样用正己烷:丙酮=1:1 (V/V) 超声波提取，硅镁吸附剂柱层析法净化，采用气相色谱-负化学源-质谱-选择离子扫描方式 (GC-NCI-MS-SIM) 分析 14 种 (9 种有机氯、3 种拟除虫菊酯和 2 种含氯有机氮) 农药残留，方法采用保留时间、定量离子、参考离子及其相对丰度比定性，外标法定量；结果表明，采用 GC-NCI-MS-SIM 分析试样中痕量甚至超痕量电负性目标物，方法在最低检出限、选择性和抗干扰能力等方面均具有较强优势，特别适合于分析含电负性原子的农药残留，是农药残留分析领域发展前景较好的方法。

粮谷试样用丙酮超声波提取，硅镁吸附剂柱层析法净化，采用气相色谱-电子轰击电离源-质谱-选择离子扫描方式 (GC-EI-MS-SIM)、气相色谱-氮磷检测器 (GC-NPD) 两种分析方法分析有机磷、有机氮、氨基甲酸酯等三类农药残留；结果表明，两种分析方法的最低检出限处于同一个数量级，但 GC-EI-MS-SIM 的定性准确度、精密度明显优于 GC-NPD。

本课题完成了云南省水稻稻飞虱、小麦条锈病主要用药及违禁农药的分离分析方法研究，对云南省农药市场监督管理提出有益的建议；研究并建立系统的、针对多类农药残留、并能满足不同实验室要求的分离分析方法，具有切合实际的参考价值。

关键词：农药质量；农药残留；粮谷；毛细管气相色谱；气相色谱-质谱联用；分离分析方法

Abstract

The influence of organic contamination to the environment and human health is a priority objective in the world nowadays. In this sense, in order to prevent and cure the plant diseases and insect pests, improve the crop yield, the multi-pesticides' toxicity become one of the most important sources of food and environment pollution. The separation and analysis of pesticide residues is a hot topic, It has been touched by many scholars. In China, pesticides quality analysis is based on individual pesticide, the separation and analysis of formulation pesticides that extensively used have few reports, which made the quality analysis of pesticides in a low level. In contrast, the quality and management of pesticides directly affect on the safe of the agriculture products, improve the separation and analysis of pesticide quality, develop series of standard criteria of the pesticides quality, have been an urgent problem.

The GC-FID、GC-EI-MS were used to have a study on major pesticides-use which have caused rice hoppers and wheat strip rust in Yunnan Province. Five kinds of organophosphorus pesticides include: methamidophos, monocrotophos, parathion, parathion-methyl, phosphamidon were prohibitively used by the Ministry of Agriculture from January 1st, 2007. The thesis researched four of them (methamidophos, monocrotophos, parathion, parathion-methyl),It was a possibility that the agriculture preparation were mixed prohibitive hazardous pesticides, An analysis of method was developed for the pesticides-use which have caused rice hoppers ,wheat strip rust and the four kinds of organophosphorus pesticides, the method accomplished qualitative and quantitative analysis through one injection, which established a base for the analysis of formulation pesticides, the effective analysis method also administered to the management of pesticides .

The analytical multi-residue method for simultaneous determination of 14 pesticides (9organochlorines, 3pyrethroid and 2organonitrogen) was developed .Pesticides were extracted from grain with hexane-acetone (volume ratio is 1:1) in an ultrasonic bath and cleaned up on a florisil column, then were determined by gas chromatography with negative chemical ionization mass spectrometric detection in the selected ion monitoring mode. The pesticides were identified by their retention time, their qualifier and target ions, and their qualifier/ target abundance ratios, and they were quantified with external standard method. The results showed that the method is sensitive and

selective, compare favourably with other detection methods, when analyzed pesticides having large electron affinity. The method had preferable development in pesticides residues.

The analytical multi-residue method for simultaneous determination of organophosphorus, carbamate, and organonitrogen was developed. Pesticides were extracted from grain with acetone in an ultrasonic bath and cleaned up on a florisil column, then were determined by GC-NPD and GC-EI-MS-SIM. The results showed that the detection limit of the two monitoring method had few difference, but GC-EI-MS-SIM had high sensitive and reliable results, compare favourably with GC-NPD.

To sum up, this paper succeeds in discussing the separation and analysis method of pesticides-use which have caused rice hoppers and wheat strip rust and the four kinds of prohibitive organophosphorus pesticides, it also puts forward helpful suggestions to pesticides market supervision and management. The systematic, multi-residue and different methods were also developed, which had practical reference value.

Keywords: pesticide quality; pesticide residue; grain; capillary gas chromatography; GC-MS; separation and analysis method

目 录

摘 要.....	I
Abstract.....	III
第一章 绪 论.....	1
1.1 引言.....	1
1.2 选题的依据及意义.....	1
1.3 国内外研究状况.....	3
1.3.1 农药质量分析.....	3
1.3.2 农药残留分析.....	5
1.4 论文的主要研究内容.....	11
1.5 论文的目的及意义.....	12
第二章 GC-FID和GC-EI-MS用于农药质量分析方法研究.....	14
2.1 引言.....	14
2.2 实验部分.....	14
2.2.1 仪器与试剂.....	14
2.2.2 色谱条件.....	15
2.2.3 溶液的配制.....	15
2.2.4 测定.....	16
2.2.5 定性与定量.....	16
2.2.6 色谱条件的优化.....	16
2.3 结果与讨论.....	18
2.3.1 标样谱图.....	18
2.3.2 准确度实验.....	19
2.3.3 精密度实验.....	20
2.3.4 实际样品定量分析结果.....	21
2.3.5 实际样品定性分析结果.....	21
2.4 结论.....	24
第三章 GC-NCI-MS-SIM分析粮谷中三类农药残留.....	26
3.1 引言.....	26

3.2 实验部分	27
3.2.1 仪器与试剂	27
3.2.2 溶液的配制	28
3.2.3 样品前处理	28
3.2.4 色谱条件	28
3.2.5 色谱条件的优化	29
3.2.6 特征离子的选择	29
3.3 结果与讨论	32
3.3.1 线性范围、标准曲线方程与相关系数	32
3.3.2 方法的添加回收率与精密度	33
3.3.3 方法的最低检出限	34
3.3.4 标样谱图与前处理方法的净化效果	35
3.3.5 试样分析结果	37
3.4 结论	38
第四章 GC-NPD和GC-EI-MS-SIM分析粮谷种三类农药残留	39
4.1 前言	39
4.2 实验部分	40
4.2.1 仪器与试剂	40
4.2.2 溶液的配制	40
4.2.3 样品前处理	41
4.2.4 色谱条件	41
4.2.5 色谱条件的优化	41
4.3 结果及讨论	44
4.3.1 标样谱图	44
4.3.2 线性范围、标准曲线方程与相关系数	45
4.3.3 前处理方法的净化效果	47
4.3.4 方法的添加回收率与精密度	48
4.3.5 方法的最低检出限	49
4.3.6 粮谷试样分析结果	49

4.4 结论.....	52
第五章 各种农药残留分析方法的特点.....	54
5.1 GC-NCI-MS-SIM分析农药残留的特点.....	54
5.2 GC-EI-MS-SIM分析农药残留的特点.....	54
5.3 GC-NPD分析农药残留的特点.....	55
5.4 GC-NCI-MS-SIM与GC-EI-MS-SIM的抗干扰能力的比较.....	56
5.5 电负性目标物分析方法的比较.....	57
5.6 总结.....	58
附录.....	60
参考文献.....	64
致 谢.....	69
攻读硕士学位期间发表学术论文目录.....	70

第一章 绪论

1.1 引言

农药^[1]指用于防治、消灭或者控制危害农业、林业的病、虫、草和其他有害生物以及有目的地调节植物、昆虫生长的化学合成的或者来源于生物、其他天然物质的一种物质或者几种物质的混合物及其制剂。随着化学工业的发展和农药使用范围的扩大,化学农药的数量和品种都在不断的增加,目前我国每年农药使用量约80万吨(制剂),居世界第一位,农药生产总量从1990年起一直名列世界第二位,仅次于美国^[2]。而我国农药生产企业技术和层次参差不齐,多数农药企业推行企业标准,相当部分的企业标准不尽合理,给检测部门带来了很大的压力;同时农药的大量和不合理使用,其残留物对大气、土壤、水体、食品的污染以及对人体的危害已经越来越多的引起人们的关注。所以加强对农药质量管理、残留的监控,对合理开发和正确使用农药,保护生态环境,保护农民的利益,保障人类健康,解决国际贸易争端,都具有重要的理论和实践意义。本文主要讨论水稻稻飞虱、小麦条锈病主要用药的快速分离分析方法和粮谷中多类农药残留的分离分析方法,并进行了系统比较和讨论。

1.2 选题的依据及意义

我国是一个农业大国,在农作物病、虫、草害等生物灾害的综合治理中,根据目前植物保护学科的发展水平,化学防治仍然是最为方便、稳定、有效、可靠和廉价的防治手段,尤其是当遇到突发性、侵入型生物灾害时,尚无其他防治方法能够代替化学农药。我国2000年、2001年、2002年发生特大蝗灾时,化学农药的高效快速防治效果,就是有力的佐证,无论是现在或是可以预见的将来,农业生产离不开化学农药^[3]。

云南省气候的多样性,导致多种病虫害的频繁发生,近年来小麦条锈病、稻飞虱呈中等偏重发生,危害面广,其中小麦条锈病年发生面积400万亩,防治450万亩,稻飞虱年发生面积400万亩,防治450万亩。由于缺乏对水稻稻飞虱和小麦条锈病用药的有效监控,导致一些地区使用农药后,水稻稻飞虱、小麦条锈病病情得不到有效控制,造成粮食产量严重损失和农民收入减少。而目前,农资市场对于防治两种病虫害的农药可谓五花八门,生产企业众多,农药产品质量也参差不齐,农药厂家利用消费者在农药使用技术上的欠缺,常有损害消费者利益的

事件发生。目前,已发现部分农药制剂中有效成分含量严重不能达到标签所示、部分农药生产厂家在农药制剂中添加了标示外的成分;上述问题,不仅对病虫害的防治效果达不到预期目的、增加农药的使用次数、增加农民的负担、对农产品的出口、摄食安全都带来了严重的问题,还有可能产生药害,带来严重的、无法挽回的后果;同时也给农药检测与管理部门带来了一定的困难。因此,为保证我省重大病、虫害防治工作取得成效;防止坑农、害农事件的发生;杜绝高毒、高残留农药的滥用,对水稻稻飞虱、小麦条锈病主要用药及违禁农药进行全面监控已势在必行,建立快速、简便、准确的针对水稻稻飞虱、小麦条锈病主要用药及违禁农药的分离分析方法是目前需要解决的重点问题。

农药残留^[4]是指农药使用后残存于生物体、农副产品和环境中的农药原体、有毒代谢物、降解物和杂质的总称。残存的数量称为残留量,在一般情况下主要是指农药原体的残留量和具有比原体毒性更高或相当毒性的降解物的残留量。

随着农药的大量和不合理使用,食品中农药残留对人类健康造成的负面影响日益显露出来^[5-7];同时,农药残留污染对生态系统的结构和功能也造成严重危害,使生物种群退化,多种生物种群濒临灭绝;我国出口的农产品也因农药残留超标而屡屡发生被拒收、扣留、退货、索赔和撤消合同等事件,造成了巨大的损失。如2002年^[3]由于日本一些媒体大肆渲染中国蔬菜的农药残留量超标,导致日本的一些大型超市联手拒卖中国的冷冻蔬菜,使当年我国出口日本的蔬菜量急剧下降,以菠菜为例,2002年出口量比2001年下降了1/3。欧、美、日等发达国家利用他们在农药生产、管理、监控及检测上的较强的技术优势,采取各种手段,以各种各样的名义实施新的贸易保护手段,增加了受检的农药残留种类,降低了多种农药残留成分的最大残留限量(Maximum Residue Limits MRLs),如日本厚生省2000年颁布的农药残留限量标准中,许多蔬菜中毒死蜱的MRLs为10 μ g/kg^[8],已接近方法和仪器的最低检出限,为超痕量分析。还有相当部分的农药品种被禁用或者严格限用而不存在MRLs,即在规定的农产品中,采用当代世界最先进的分析方法不得检出。这些技术壁垒已经成为了我国粮食出口的主要障碍,形势十分严峻;与此同时,人们不断研究毒性低,残留时间短的新型农药,这些农药的不断出现,使得农药残留分析面临着更大的挑战。而我国直到90年代^[9]才开始全面重视食品中的农药残留,虽然农业部规定了《农药安全使用标准》、《农药残留限量标准》,但

由于得不到强有力的法律及执法机构的监督管理而难于有效实施，从而造成食品中的农药残留过高；另外相应的监测和研究工作也远远落后于世界各国频繁更新的标准和法规，而大大限制了我国农产品的出口。这一问题引起了我国相关职能部门的高度重视，促使我国相关部门也大力加强了检测工作的力度，研究和建立了许多针对食品中农药残留成分的分离分析方法。在这些研究报告中，较为常用的仍然是气相色谱专属性检测器、气相色谱-电子轰击电离源-质谱，前者大都针对一类或者两类农药残留，难以用一种检测器将所需分析的所有组分全部分析出来；此外，用GC-FPD/NPD/ECD时，只能依据保留时间来鉴定组分，而试样基质复杂，难以避免“假阳性”现象；后者若采用选择离子扫描方式，能满足多类农药残留分析的要求，获取的物质信息丰富，特别是对农药代谢物、降解物的分析和多类农药残留分析，具有突出的优点；且质谱仪的负化学源在农药残留分析中的重要性日渐突出，并在许多方面相比其余分析方法有较大优势。所以，研究并建立系统的、针对多类农药残留、能满足不同实验室要求的分离分析方法，是现阶段农药残留分析工作的重点，也是我们迫切需要解决的问题。

1.3 国内外研究状况

1.3.1 农药质量分析

农药质量分析主要是指分析农药制剂中有效成分的一种分析技术，包括鉴别实验和含量测定两个部分；国内外研究报告不多，多采用国家标准、行业标准、企业标准等，主要的分离分析方法有：薄层层析法、红外光谱法、液相色谱法、气相色谱法、气相色谱-质谱联用法等。

1.3.1.1 薄层层析法（TLC）

薄层层析法分析有机类农药制剂^[10]，试样经薄层层析，将农药制剂中的有效成份与杂质分离，试样溶液经展开得到的主斑点与对照的标样溶液的斑点其 R_f 值应一致；也可进一步进行含量分析，但方法分离效果较低，定量误差较大，已较少使用。

1.3.1.2 红外光谱法（IR）

红外光谱法只用于对单一农药制剂进行同一性鉴别实验^[11-12]，试样与标样在 4000cm^{-1} - 400cm^{-1} 范围内的红外吸收光谱应无明显差异；则认为该农药制剂含有所标示农药的有效成分，一般不用红外光谱法进行定量分析。

1.3.1.3 高效液相色谱法 (HPLC)

高效液相色谱法主要用于热稳定性较差,分子量较大的不适合气相色谱分析的农药,如用高效液相色谱法测定吡虫啉^[13](热稳定性差)、阿维菌素^[14](分子量 B_{1b}858、B_{1a}872)等,在现行的农药标准和文献报道中,高效液相色谱用于农药质量分析,即有正相,也有反相,其中75%左右的采用反相,多采用外标法,也有采用离子色谱等特殊液相色谱方法的报道。

1.3.1.4 气相色谱法 (GC)

气相色谱法具有高效、快速、经济的特点,因此在我国现行农药标准中,采用气相色谱法(氢火焰离子化检测器)作为检测手段的占一半以上,都采用填充柱,测定方法都针对单一品种,内标法定量,较为常用的内标物有:邻苯二甲酸二丁酯、邻苯二甲酸二甲酯、邻苯二甲酸二辛酯、邻苯二甲酸二乙酯、二十三烷、磷酸三苯酯等,如:气相色谱法测定毒死蜱^[15]、三唑酮^[16]、噻嗪酮^[17]等;多种农药组分同时测定的通用方法的报道较少,山东省烟台市产品质检所金如琛等^[18]起草的《农药有效成分的气相色谱快速分析方法》的国家标准,采用的是较传统的两支填充柱和热导检测器测定了12种农药,按照12种农药各自的色谱条件,选择了6种内标物分别进样分析,涉及的农药品种主要是有机磷和拟除虫菊酯类,不是在同一色谱条件下同时测定,而是对每一组分分别测定。王骏等用毛细管气相色谱法测定十八种农药的有效成分^[19]。采用气相色谱法的保留时间确认色谱峰,能够满足农药生产厂家对其产品进行质量控制的要求,而对于农药市场监督管理,其定性能力远远不能满足要求。

1.3.1.5 气相色谱-质谱联用法 (GC-MS)

GC-MS是现代有机分析联机技术中比较成熟的分析技术,它具有气相色谱高分离性能,又具有质谱鉴定化合物结构的特点,可达到同时定性、定量的目的,对影响农药质量的杂质可以进行定性、定量分析,对农药质量分析有特殊意义。海南省出入境检验检疫局的黄惠玲^[20]等,用SE-30,0.53mm大口径毛细管柱和火焰离子化检测器,内标法定量,测定速克灵、戊唑醇等12种农药中有效成分,实验用3种内标物,两组程序升温,分两次进样分析,并用气相色谱-质谱定性确证,进一步保证了结果的准确性。对农药制剂中有效成分的分析,属于常量分析,GC-EI-MS采用全扫描方式(SCAN),就能满足定性、定量分析的要求,且SCAN获

取的物质信息成分丰富, EI 源 (70ev) 现有的大量有机化合物的标准谱库, 对农药制剂中标示外成分是有力的定性工具。

总之, 农药质量分析研究报道较少, 多针对单剂, 传统的薄层色谱法、红外光谱法已较少使用, 应用较多的仍然是气相色谱法, 内标法定量分析; 而GC-MS 对于农药市场管理具有特殊意义。

1.3.2 农药残留分析

农药残留分析是在复杂的基质中对微量甚至痕量待测组分进行定性和定量分析的分析技术, 农药残留分析即需要精细的样品前处理手段又需要高灵敏的痕量检测技术, 其中检测技术是核心, 而样品前处理方法是保障。

目前, 农药残留分析的重点和难点主要有以下几点^[21]: 多残留分析(MRMs)、高添加回收率(>70%)和高重现性、低检出限、操作简单易行等。由于同时分析的农药数量过多, 某些极性、结构类似的农药在谱图上出现部分, 甚至完全重叠。同时不同种类的农药性质差别较大, 如有机磷类农药大部分极性较强, 而有机氯农药极性偏弱, 为了确保绝大部分农药都有很好的回收率, 不可避免会将样本中的基质引入检测部分, 某些目标农药会被基质淹没, 无法识别, 对检测结果产生严重的干扰^[22-23]。如何从这些重叠峰和背景干扰中将每一个目标化合物“筛选”出来, 从而排除基质的干扰, 对目标化合物进行准确定性、定量分析一直是分析方法的难点。

1.3.2.1 样品前处理

食品中农药残留分析的前处理就是从样品中提取和净化痕量农药, 以便进行色谱分析测定。粮谷是复杂的样品, 净化不良的样品存在的大量的杂质会干扰或阻碍农药残留分析。如, 不能与待测组分实现完全分离的干扰杂质会影响色谱分辨率、重现性、甚至将待测组分完全掩盖。通过前处理的方法消除这些干扰后, 色谱分析的分度、重现性、准确度将大大提高; 避免对色谱柱和检测器等的污染, 延长色谱柱的使用寿命; 同时, 前处理能富集、浓缩样品, 使样品中含量过低的待测组分达到检测器的最低检出限。因而, 提取、净化是农药残留分析中十分重要的前处理步骤。

在农药残留分析中, 如何将多种农药同时提取出来, 有效去除杂质, 同时又保持高的添加回收率, 是前处理过程的重点与难点。常见的提取溶剂有: 乙腈、

乙酸乙酯、二氯甲烷、丙酮等。乙腈的优点是很多亲脂性化合物如脂肪、蜡质物等不被萃取，但乙腈毒性较大、不易浓缩、且价格较高；乙酸乙酯和二氯甲烷对部分农药有很好的提取效果、较易浓缩；丙酮既能提取极性物质也能提取非极性物质，另外，它还具有低毒、易于浓缩等优点。AOAC 也不断修改其方法，部分方法已由乙腈改为丙酮作提取剂^[24]。

常用的提取方法有：浸渍、漂洗法、振荡法、匀浆法、索氏提取法、消化法、超声波提取法，快速溶剂萃取法、超临界流体萃取法、微波辅助萃取法、固相微萃取法、基质固相萃取法等，其中固相微萃取、基质固相萃取同时完成了提取和净化两个步骤，自动化程度更高。

常用的净化方法有：液-液分配法、磺化法、凝结沉淀法、冷冻法、吸附柱层析法、固相萃取法、凝胶渗透色谱法、离子交换层析法等，本文就主要用于粮谷前处理的固相萃取、凝胶渗透色谱和基质固相萃取作简单介绍。

固相萃取 (SPE)^[25] 是一种由固液萃取和液相色谱技术结合发展而来的试样处理技术，利用固体固定相将液体样品中的目标化合物吸附，与样品的基体和干扰化合物分离，然后再用洗脱液洗脱或者是加热解吸附，达到分离和富集目标化合物的目的^[26]；另一种分离情况是杂质被保留在柱上，待测组分通过柱。SPE 由于具有速度快、有机溶剂消耗较少、不会出现乳化现象、操作简单、容易自动化等优点^[27]，发展成为一种较为常见的净化手段。

SPE 实质上一种液相色谱分离技术，其主要的分离模式也与液相色谱相同，可分为正相、反相、离子交换等，其作用机理包括氢键、偶极作用、疏水性相互作用和静电吸引力等。固相萃取所用的固定相也与液相色谱相同，只是在粒径上有所区别，SPE 柱的粒径大于 HPLC 的粒径，SPE 柱的柱效也远远低于 HPLC，主要用于样品处理。

SPE 柱的种类^[28]有正相 SPE 柱,其填料主要为 Florisil、氧化铝、硅胶等；反相 SPE 柱,填料主要为 C18；另外还有氰基键合相柱(CN)以及离子交换柱和吸附树脂柱。其中 Florisil 对亲脂性化合物有特别的吸附作用，用低极性溶剂洗柱，非极性农药残留的回收率很高，因此是常用的填料^[29-33]；氧化铝柱在分析脂肪含量高的食品时可以替代 Florisil^[34]；而硅胶吸附柱的净化分离效果不如氧化铝柱，但可以根据残留农药的极性进行不同的处理，如 Lores^[35]用改进的硅胶吸附柱(1%的

醋酸+3.5g 硅胶)净化 11 种有机磷农药,回收率在 92%-101%之间。

在没有商品化的固相萃取小柱以前,常用柱层析的方法,如胡敏^[36]等用硅镁吸附剂柱层析的方法,高效液相色谱法测定大米中氨基甲酸酯类农药残留,实验依次用二氯甲烷、丙酮:甲醇=1:1(V/V)各40mL洗脱;贺德春^[37]等用硅镁吸附剂柱层析净化,气相色谱法进行检测面粉和 大米中 14 种农药残留量,净化时先用 20 mL 5%乙酸乙酯-石油醚混合溶液预淋层析柱,等预淋液进入上层无水硫酸钠层时,弃去淋出液,将待净化提取液转入层析柱上,用 100mL 5%乙酸乙酯-石油醚混合溶液淋洗,回收率在 90%以上,能满足农药残留分析的要求。

凝胶渗透色谱技术(GPC)是根据溶质(被分离物质)分子量的不同,通过具有分子筛性质的固定相(凝胶),实现分离、净化。1967年,Ruzicka^[38]等首先报道了凝胶色谱法用于蔬菜样本中有机磷农药的残留分析,并取得了较好的净化和分析结果。随后凝胶色谱技术受到广泛重视,成为农药残留分析中一种主要的净化手段并不断得到改进和发展。目前用于农药净化的凝胶有聚苯乙烯凝胶,国外商品如 BIO-Bead S-X2 或 S-X3,国产有 NGX-01、04;葡聚糖凝胶如 Sephadex LH-20, Lipidex 等。J A Ault 等^[39]用 BIO-Beads S-X3 作为柱填料,用二氯甲烷-环己烷(15:85,V/V)作为洗脱剂,检测 33 种有机磷农药(洗脱体积在 80-320mL),添加回收率在 83%~103%之间;D M Holstege 等^[40]用正己烷-乙酸乙酯(60:40,V/V)作为 GPC 洗脱剂,对 43 种有机磷农药进行分离净化。美国热电的张伟国、储晓刚^[41]等采用 GPC 和 Florisil 小柱,气相色谱-离子阱质谱-选择离子方法实现了一次进样对大米中的 107 种农药进行定性、定量分析;李樱、储晓刚^[42]等用乙酸乙酯提取,凝胶渗透色谱和固相萃取净化,GC-ECD 检测,外标法定量,测定大米中的残留农药;刘咏梅、王志华^[43]等用乙酸乙酯提取,凝胶渗透色谱净化,环己烷-二氯甲烷(50:50,V/V)作为流动相,GC-NPD 检测了糙米中 50 种有机磷农药残,相对标准偏差为 1.7%~18.9%,40 多种农药平均回收率在 70%~120%之间。

基质固相分散(MSPD)是由美国 Louisiana 州立大学的 Barke^[44]教授在 1989 年首次提出,并给予理论解释的一种崭新的固相萃取技术,其基本操作是将试样直接与适量的反相填料研磨,混匀制成半固态装柱淋洗。MSPD 浓缩了传统样品前处理中所需要的样品匀化、组织细胞裂解,提取,净化等过程,避免了样品均化、转溶、乳化、浓缩等造成的待测物损失。MSPD 是简单高效的提取净化方法,它首先

提高了分析速度,使现场监测成为可能,而且它更适合自动化分析。侯圣军、郝向洪等^[45]采用基质固相分散技术进行样品前处理,用GC-ECD检测了12种有机氯农药,添加回收率在83%~103%之间,相对标准偏差在2.2%~19%之间。

1.3.2.2 检测技术

农药残留分离分析的检测方法包括:比色法、薄层层析法、气相色谱法、气相色谱-质谱联用法、液相色谱法、液相色谱-质谱联用法、毛细管电泳法、免疫分析法等,比色法和薄层层析法等传统分析方法已经不能适应各国政府所制定的农药残留标准的要求,近年来已经被现代仪器分析技术所代替。

1.3.2.2.1 气相色谱法 (GC)

在60年代气相色谱技术得到飞速发展,许多高灵敏度的检测器开始应用,解决了过去难以检测的农药残留问题,特别是一些专属性检测器的出现,大大提高了分析方法的灵敏度。但是由于专属性检测器仅对含某种特定杂原子的化合物有很高的选择性和灵敏度,而局限了它同时对多类农药进行分离分析的能力。Torres^[46]对60篇关于食品中农药残留成分分离分析方法的文献总结认为:常用于食品中农药残留成分分离分析的检测器仍然是电子捕获检测器(ECD)、氮磷检测器(NPD)和火焰光度检测器(FPD)。ECD是具有高选择性和高灵敏度的离子化检测器,只对具有电负性的物质有较好响应,尤其对有机氯、拟除虫菊酯类农药有较好的相应。俞勇、邹图德^[47]等用ECD检测了大米中11种有机氯农药的残留量,方法的最低检出限为0.005mg/kg,回收率在88.8%~108.5%之间;张伟国、储晓刚^[48]等用凝胶渗透色谱技术检测大米中拟除虫菊酯类农药的残留量,大部分农药回收率保持在70%~90%之间。NPD是在FID上发展起来的一种专属性检测器,它对含N或P的有机化合物具有良好的选择性,是测定有机磷、氨基甲酸酯和有机氮类农药的常用检测器;龚道新、杨仁斌^[49]等用气相色谱氮磷检测器法检测大米、面粉中22种有机磷和有机氮类农药残留,方法的最小检出量在 5.180×10^{-12} ~ 8.541×10^{-11} g之间。FPD是征对有机磷类农药的一种专属性检测器,选择性的吸收含S、P化合物发出的特征波长(394nm和526nm),通过相应波长的滤光片,可以得到选择性很好的信号。刘爱洁、尹笃林^[50]等气相色谱法测定大米中多种有机磷农药残留量,方法检测下限在0.01~0.08mg/kg之间,回收率在80%~101%之间,相对标准偏差:2%~9%。但气相色谱确认色谱峰的参数常用保留时间,保留时间

的重现性受很多因素的影响, 仅根据气相色谱所提供的保留时间从复杂基质中对多种农药进行定性分析是非常困难的, 也是不可靠的^[51], 双柱法^[52]、多维气相色谱技术^[53-54]、气质联用技术^[55-56]的出现在一定程度上解决了这一问题。

1.3.2.2.2 气相色谱-质谱联用法 (GC-MS)

GC-MS是近几十年才发展起来的检测技术, 这种联用技术不仅弥补了色谱技术的定性特征性不强的缺点, 而且, 现代质谱仪对目标物的定量分析也能满足要求。

气相色谱-电子轰击电离源-质谱 (GC-EI-MS) 联用技术具有对样品中不同种类的上百种农药残留同时进行快速扫描、定性、定量的优势, 因此使得它在农药残留分析中显得尤其重要, 并已被很多国家研究者开发和应用, 残留检测的农药由十几个发展到百种以上^[57], 若方法得当, GC-EI-MS-SIM的方法的最低检出限能与几个气相色谱专属性 (ECD、FPD、NPD) 的最低检出限在一个数量级上。

近年来, 软电离源 (PCI、NCI) 在农药残留分析中的应用越来越受到重视, 特别是NCI在分析含电负性基团的物质时, 具有较高灵敏度 (即对电负性目标物具有选择性), 再采用选择离子扫描方式, 针对目标化合物进行选择扫描, 大大地提高了方法的选择性和抗干扰能力。国内外学者已经将气相色谱-负化学源-质谱法 (GC-NCI-MS) 技术应用于多氯联苯、卤代烃、有机氯和有机磷等农药目标物的分析^[58-59], 证明了在分析电负性目标物方面, GC-NCI-MS是比GC-ECD和GC-EI-MS更有优势的分析方法。沈崇钰^[60]等用气相色谱-负化学源质谱联用法测定菊酯类农药; 林竹光, 金珍^[61]等用GC-NCI-MS分析茶叶中17种有机氯和拟除虫菊酯农药残留, 大部分农药的最低检出限均小于1.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

1.3.2.2.3 高效液相色谱法 (HPLC)

高效液相色谱的发展拓宽了农药分析的范围, 在农药残留成分的分离分析中, HPLC常用于分析极性很强, 分子量大的离子型农药, 尤其适用于高沸点 (如双吡啶除草剂) 和热不稳定 (部分氨基甲酸酯类) 的农药残留分析。如HPLC测定氨基甲酸酯类农药在大米中残留量^[36]。

1.3.2.2.4 高效液相色谱-质谱联用法 (HPLC-MS)

液相色谱-质谱联用技术将液相色谱和质谱联接起来的新方法, 用于分析对热不稳定, 难于用气相色谱分析的化合物, 具有灵敏度高、选择性好、定性、定量同时进行, 结果可靠等优点, 具体到农药残留分析中, 主要用于部分热稳定性较

差的氨基甲酸酯类农药和除草剂类型的农药。丁涛^[62]等用高效液相色谱-柱后衍生和质谱联用测定大米中氨基甲酸酯类农药残留量，大米经二氯甲烷和丙酮的混和溶剂提取后，用柱后衍生荧光检测法和离子阱多级质谱联用法进行测定。柱后衍生荧光检测法检出限为20~50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，离子阱多级质谱联用法的检出限为10~20 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，添加平均回收率在70%~92%之间，RSD在6.7%~12%之间。

1.3.2.2.5 超临界流体色谱法 (SFC)

超临界流体色谱 (SFC) 是以超临界流体作为色谱流动相，可以使用各种类型的较长色谱柱，可以在较低温度下分析分子量较大、对热不稳定的化合物和极性较强的化合物，它综合了气相色谱和高效液相色谱的优点，克服了各自的缺点，可以和大部分的GC和HPLC的检测器连接，如FID、NPD、MS等。这样就极大地扩大了其使用范围，许多在GC和HPLC需要衍生的化合物，在SFC上可以直接测定。王建华^[63]用超临界流体萃取结合气相色谱研究了蔬菜水果中多种有机磷农药残留的方法，回收率在82%~108%之间，RSD: 4.6%~11%。由于SFC仪器本身很多的问题没有解决，在农药残留分析中应用并不是很多。

1.3.2.2.6 毛细管电泳法 (CE)

毛细管电泳是使用毛细管柱内的不同的带电粒子 (离子、分子或衍生物) 在高压场作用下，以不同的速度在背景缓冲溶液中定向迁移，从而达到分离的目的，具有分离效率高、快速、样品用量少等优点。在农残分析中，特别适合于分析难于用传统的HPLC分离的离子化样品，但目前毛细管电泳仍然缺乏灵敏度很高的检测器，可利用的紫外检测器能检测到几个皮克，但由于进样量只有几纳升，故样品浓度被限制在 $10^{-6}\text{g}/\text{mL}$ ，使得毛细管电泳的应用受到限制。Beta和Garrison^[64]对烷基取代芳酸盐除草剂进行衍生，结合MEKC，采用激光诱导检测器进行CE分离，进样4nL时，检测限到2fg。

1.3.2.2.7 免疫分析法 (IA)

利用抗体和抗原的结合反应检测的方法称为免疫分析法^[65]，免疫分析技术是生物技术与分析技术相结合的产物，具有快速、灵敏、简单和选择性高等优点，但只有解决了如下问题才能得到很好的应用，首先农药是小分子有机化合物 (分子量一般小于500)，是半抗原，半抗原只有与一种蛋白质 (载体) 连接才能成为抗原，而得到一个好的抗原并不容易；其次要解决基体的干扰问题，而农药残留

分析基体都较为复杂，要经过严格的净化才能得到比较可靠的结果，而净化过程太复杂，本身就失去了简单、快速的优势；最后IA测定的是每类农药的总残留量，而无法具体分析每种农药。在美国、德国、英国等国家都成立了有关免疫分析专家工作组，其目的是要确定IA作为残留分析手段的准则和标准，促进IA技术更加完善，使其分析结果能为权威机构或农药登记部门正式接受。所以准确定量仍然是免疫分析法尚未解决的问题，目前仍没有得到美国环境署（EPA）的认可。

随着国家标准 GB/T20770-2006、GB/T20771-2006、GB/T20772-2006、GB/T19650-2006、GB/T19426-2006、GB/T19648-2006、GB/T19649-2006、GB/T20769-2006^[66-73]的颁布与实施，气相色谱-质谱、液相色谱-质谱成为农药残留分析的常规检测技术，待测物的种类上升到几百种，但由于经费、技术等原因，气相色谱-质谱、液相色谱-质谱作为常规的检测技术，还有待发展；目前，应用较多的仍是（ECD、FPD、NPD）。

总之，随着各种新技术的应用，农药多残留分析方法日趋系统化、规范化、并向小型化、自动化方向发展；同时，由于在线联用技术可避免样品转移的损失，减少各种人为的偶然误差，因此，各种在线联用技术必将是农药多残留分析发展的重点。

1.4 论文的主要研究内容

1.4.1 GC-FID和GC-EI-MS用于农药质量分析方法研究

①应用GC-FID、GC-EI-MS作为检测手段对云南省水稻稻飞虱、小麦条锈病主要用药进行质量分析，对5类14种农药（包括单、复配制剂）的分离分析方法进行研究，使建立的方法通过一次进样，能同时完成定性、定量的分析，并能快速得出结论，农药制剂中是否添加了农业部禁止销售的4种农药（甲胺磷、久效磷、对硫磷、甲基对硫磷）。

②希望通过大量的有代表性农药制剂的分析，筛选出一批具有较高质量的农药厂家的农药产品，更好的指导农药生产。

1.4.2 GC-NCI-MS-SIM分析粮谷中三类农药残留

①探讨硅镁吸附剂柱层析对粮谷样品进行前处理的方法，研究方法的淋洗溶剂、淋洗溶剂的体积、比例，寻找简单、快速、回收率高的适合 GC-NCI-MS-SIM的样品前处理方法。

②利用 GC-NCI-MS 选择离子扫描方式测定三类（有机氯、拟除虫菊酯和有机氮）农药在粮谷中的残留，主要探讨方法在最低检出限、选择性、抗干扰能力等方面的优越性，并从理论和实验中给予论证。

1.4.3 GC-NPD 和 GC-EI-MS-SIM 分析粮谷中三类农药残留

①探讨硅镁吸附剂柱层析对粮谷样品进行前处理的方法，研究方法的淋洗溶剂、淋洗溶剂的体积、比例，寻找简单、快速、回收率高且适合 GC-NPD 和 GC-EI-MS-SIM 的样品前处理方法。

②应用 GC-NPD、GC-EI-MS-SIM 两种分析方法，分析三类（有机磷、氨基甲酸酯、有机氮）农药在粮谷中的残留，探讨在同样的前处理条件下，两种分析方法的最低检出限、线性相关系数、准确度、精密度等方面的优劣。

1.4.4 各种残留分析方法的特点

①系统讨论 GC-NCI-MS-SIM、GC-EI-MS-SIM、GC-NPD 在农药残留分析中各自的应用范围、方法的优点与缺点等内容。

②探讨方法 GC-NCI-MS-SIM 相比方法 GC-EI-MS-SIM 在抗干扰能力方面的优劣。

③探讨在分析电负性目标物时，方法 GC-ECD、GC-EI-MS-SIM、GC-NCI-MS-SIM 在最低检出限上的区别。

④通过系统的比较，探讨 GC-MS 在农药残留分离分析领域的发展趋势。

1.5 论文的目的及意义

农药质量分析是保证农产品安全的重要前提，特别是《农产品质量安全法》颁布以后，引起了相关部门的重视，加强农药市场的监督与管理，势必加重检验部门的工作压力，研究快速的，几种农药制剂同时分离分析的检验方法是势在必行的任务。

随着大量研究工作者不断开发出一些毒性低，残留时间短的新型农药，以及各国对食品中农药残留种类以及最大残留量做出新的规定，建立系统的、针对多类农药残留、能满足不同实验室要求的分离分析方法，是现阶段农药残留分析工作的重点，研究开发该类分离分析方法，是控制农药残留、保证食用者安全和避免国际间相关贸易争端的基础。

本课题具有如下的一些意义：

① 提供了多种农药复配制剂的检验方法，为农药厂家研究及开发复配制剂提供了一定的技术支持；方法具有分离度高、定性、定量准确等特点，用于测定课题中部分或者全部的农药试样，不失为一种准确可靠、快速、简单易行的分析方法，特别是对复配农药的分离分析本方法的选用能减少环境污染、节省人力、物力的投入；对进入云南省农药市场的防治水稻稻飞虱和小麦条锈病的农药产品有了全面了解，筛选出一批在标签、质量上均符合要求的农药厂家的产品，能更好的指导农业生产；该方法特别适合于农药管理部门监督、管理农药市场，能快速地对未知农药及其违禁成分进行定性、定量分析。

② GC-NCI-MS-SIM 法分析粮谷中具有电负性原子的农药残留，方法在最低检出限、选择性、抗干扰能力等方面相比其余分析方法有较大优势，是农药残留分析领域发展有较好前景的方法。

③ 两种检测器（MS、NPD）分析经同样前处理方法处理的粮谷样品，得出结论：MS 与 NPD 的最低检出限处在同一个数量级，都能满足农药残留分析的要求，但 MS 定性准确度、精密度显著优于 NPD。

④ 本研究之前在国内外均未见用论文中涉及方法分离分析水稻稻飞虱、小麦条锈病主要用药及 4 种违禁农药的报道。

⑤ 本研究之前在国内外未见用论文中涉及方法分离分析粮谷中农药残留的报道。

论文完成了农药质量分析和残留分析两个部分，即完成了常量分析，又完成了痕量分析，对农药质量管理、监督、控制有一定了解，并提出了有益的建议，具有切合实际的参考价值。

第二章 GC-FID 和 GC-EI-MS 用于农药质量分析方法研究

2.1 引言

氢火焰离子化检测器 (FID) 对几乎所有的挥发性有机物都有响应, 是农药质量分析最常用的检测器, 根据气相色谱最根本的定性指标 (保留时间) 进行定性, 能够满足农药生产厂家对其产品进行质量控制的要求, 而对于农药市场监督管理与管理, 首先样品的种类多、数量大, 其次农药制剂质量参差不齐, 部分农药制剂中添加标示外的成分; 采用GC-FID分离分析农药制剂中标示外的成分, 其定性能力不能满足要求, 而GC-EI-MS刚好能弥补GC-FID的定性特征性不强的缺点; 广泛使用的复配农药的研究报道较少, 部分农药生产、监督与管理部分对每一种复配组分分别进行定性、定量分析, 花费大量的人力、物力。

针对上述问题, 课题选取水稻和小麦的主要病虫害 (水稻稻飞虱、小麦条锈病) 的防治用药和 4 种 (甲胺磷、对硫磷、甲基对硫磷、久效磷) 毒性强、残留时间长、农业部禁止使用与销售的农药, 建立了 5 类 14 种农药的快速分离分析方法。方法采用毒性较小的二十四烷作内标物, 两种方法定性、定量分析; 另外, 对农药制剂中有效成分的分析, 属于常量分析, GC-EI-MS 采用全扫描方式 (SCAN), 就能满足定性、定量分析的要求, 且 SCAN 方式获取的物质信息丰富, EI 源 (70eV) 现有的大量有机化合物的标准谱库, 对农药制剂中标示外成分是有力的定性工具。

14 种测定的农药的性质见附录表 6.1, 其中仲丁威、异丙威、高效氯氟菊酯、三唑磷、毒死蜱、噻嗪酮、乐果是防治水稻稻飞虱的主要农药制剂的有效成分, 百菌清、烯唑醇、三唑酮是防治小麦条锈病的主要农药制剂的有效成分, 且 10 种农药的单剂、复配制剂在市场上较为常见, 确保了方法的实用性。

2.2 实验部分

2.2.1 仪器与试剂

美国热电菲尼根 Trace GC 气相色谱仪, 北京东方精华苑科技有限公司 (空气发生器 SGK-2LB 和氢气发生器 SGH-300), 分析柱: ZB-1701 (30m × 0.32mm × 0.25μm)。

美国热电菲尼根 Trace DSQII 气相色谱-质谱仪, 分析柱: ZB-1701 (30m × 0.32mm × 0.25μm)。

农药标样 (甲胺磷、久效磷、毒死蜱、乐果、仲丁威、异丙威、三唑酮、噻

嗪酮、高效氯氰菊酯、百菌清、烯唑醇) 来自国家农药质量监督检验中心, 对硫磷、甲基对硫磷、三唑磷 (Augsbury Germany), 内标物: 二十四烷 (天津市化学试剂研究所)

丙酮 (分析纯)

2.2.2 色谱条件

2.2.2.1 GC-FID 色谱条件

色谱柱: ZB-1701 (30m×0.32mm×0.25μm), 载气 N₂, 柱流量: 2.20mL/min, 分流进样, 分流比: 5:1, 进样口: 260℃; 柱温: 70℃—39℃/min—210℃—3℃/min—230℃—30℃/min—270℃ (10.0min), 检测器: 290℃, 尾吹气 (N₂): 30mL/min, 氢气: 45mL/min, 空气: 400mL/min, 进样量: 1μL。

2.2.2.2 GC-EI-MS 条件

色谱柱: ZB-1701 (30m×0.32mm×0.25μm), 载气: He 气, 进样口: 260℃; 分流进样; 分流比: 5:1; 进样量: 1μL; 柱流量: 2.20 mL/min; 柱温: 70℃—39℃/min—210℃—3℃/min—230℃—30℃/min—270℃ (7.0min), 电离方式: EI, 解离电压: 70eV, 离子源温度: 200℃, 接口温度: 230℃。离子检测模式: SCAN, 溶剂切除时间: 2.5min, 扫描时间: 3.0min-18.79min, 扫描范围: 45-450, 检测器增益方式, 绝对值: 1.00KV。

2.2.3 溶液的配制

2.2.3.1 内标溶液的配制

准确称取一定量 (精确到 0.1mg) 的内标物 (二十四烷), 丙酮定容, 配制成浓度为 5mg/mL 的溶液。

2.2.3.2 标准溶液的配制

准确称取 (精确到 0.1mg) 一定量的农药标准品, 丙酮定容, 配制成浓度为 5mg/mL 的农药单标标准溶液, 根据 FID 对各种农药及内标物的响应, 决定其混合标准溶液的浓度: 甲胺磷 (0.1mg/mL)、久效磷 (0.1mg/mL)、乐果 (0.1mg/mL)、三唑磷 (0.1mg/mL)、对硫磷 (0.1mg/mL)、甲基对硫磷 (0.1mg/mL)、噻嗪酮 (0.1mg/mL)、烯唑醇 (0.1mg/mL)、三唑酮 (0.1mg/mL)、百菌清 (0.1mg/mL)、毒死蜱 (0.1mg/mL)、仲丁威 (0.05mg/mL)、异丙威 (0.05mg/mL)、高效氯氰菊酯 (0.3mg/mL), 内标物 (二十四烷) 0.1mg/mL。

2.2.3.3 样品溶液的配制

根据响应值、农药制剂有效成分含量，准确称取一定量(精确到 0.1mg)的待测试样于 50mL 容量瓶中，加入一定量的内标物(二十四烷)，丙酮定容，超声波振荡 5min，摇匀，过 0.45 μm 膜，备用。

2.2.4 测定

待仪器稳定后，以 2.2.2 中 GC-FID、GC-EI-MS 色谱条件，按照标样溶液、试样溶液、试样溶液、标样溶液的顺序进样分析。

2.2.5 定性与定量

2.2.5.1 定性

① 将试样溶液中某一色谱峰，与混和标样溶液中相应农药成分色谱峰的保留时间进行比较，偏差在 10s 以内，则认为是该农药组分，偏差大于 10s，则可排除该农药组分的存在。

② 将试样溶液中某一色谱峰，与混合标准溶液中相对应农药成分的总离子流图的保留时间进行比较，偏差在 10s 以内，同时与标准溶液的质谱图进行比较，其定性离子的相对丰度比应小于 20%，则认为是该成分。

2.2.5.2 定量

将求得的两针试样溶液以及试样溶液前后两针标样种农药有效成分与内标物峰面积的比分别进行平均，农药成分的质量百分含量 W ，按式(1)计算：

$$W = \frac{r_2 \cdot m_1 \cdot P}{r_1 \cdot m_2} \quad (1)$$

式中： r_1 ——标样溶液中目标农药与内标物峰面积比的平均值

r_2 ——试样溶液中目标农药与内标物峰面积比的平均值

m_1 ——标样的质量，g

m_2 ——试样的质量，g

P ——标样溶液中目标农药的质量分数

其中方法 GC-EI-MS-SCAN，其目标农药及内标物的峰面积以 TIC 图中该成分的峰面积记。

2.2.6 色谱条件的优化

2.2.6.1 色谱柱的选择

由于测定的对象分别属于有机磷、氨基甲酸酯、有机氯、拟除虫菊酯等不同结构的化合物，它们在分子量、极性、结构等方面有较大差异，实验中尝试了 **ZB-1**、**ZB-5**、**ZB-1701** 等多种不同极性的毛细管柱，结果表明在 **ZB-1701** 上，14 种农药分离效果较好，保留时间适中，最终选定 **ZB-1701**。

2.2.6.2 定量方法与内标物的选择

由于毛细管柱柱容量的限制，只能选择分流进样的进样方式，内标法定量，提高了准确度；并采用毒性较小的二十四烷作为内标物，其在 FID、MS 上的响应与测定的 14 种农药接近，色谱峰位于 14 种农药的色谱峰的中间，且与所有峰不重叠，分离度能满足分离分析要求。

2.2.6.3 提取溶剂的选择

根据待测农药的性质，我们选择了对目标农药溶解度较大的几种溶剂：三氯甲烷、丙酮、二氯甲烷作为待测农药的提取剂，通过加入标准溶液到农药制剂中，比较其添加回收率，选择适合提取 14 种农药的提取剂，见图 2.1。图中仅是部分具有代表性的农药的添加回收率。

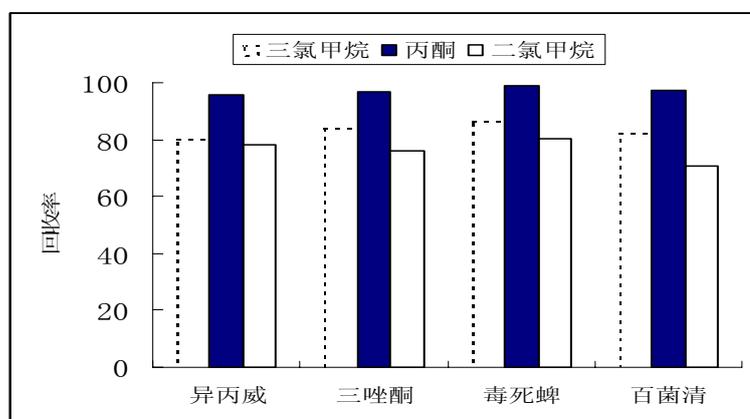


图 2.1 部分农药提取溶剂的添加回收率
Fig.2.1- Effect of extract solvent on recovery of pesticides

从图 2.1 可以看出，用丙酮作为溶剂，回收率最高，优于二氯甲烷和三氯甲烷。

2.2.6.4 进样口温度的选择

在实验中选择了容易分解的仲丁威、异丙威及沸点较高的高效氯氰菊酯为研究对象，尝试了 220℃、230℃、240℃、250℃、260℃为进样口温度，研究不同进样口温度对三种农药峰高变化情况。根据实验发现，260℃以后高效氯氰菊酯的峰高趋于稳定，这主要是因为 260℃之前，进样口温度相对较低，沸点高的高效氯

氰菊酯气化的时间变长，样品在柱内分布加宽，峰高就要下降，当气化室温度升至足够高时样品可以瞬间气化，峰高就比较稳定。但是仲丁威、异丙威在 260℃ 以后不稳定，最终选定进样口温度为 260℃。

2.3 结果与讨论

2.3.1 标样谱图

在优化的色谱条件下，5 类 14 种农药的混合标准溶液的 GC-FID 色谱图，见图 2.2，GC-EI-MS-SCAN 的总离子流图见图 2.3，从图中可以看出优化的色谱条件及内标物的选择能满足分析的要求。

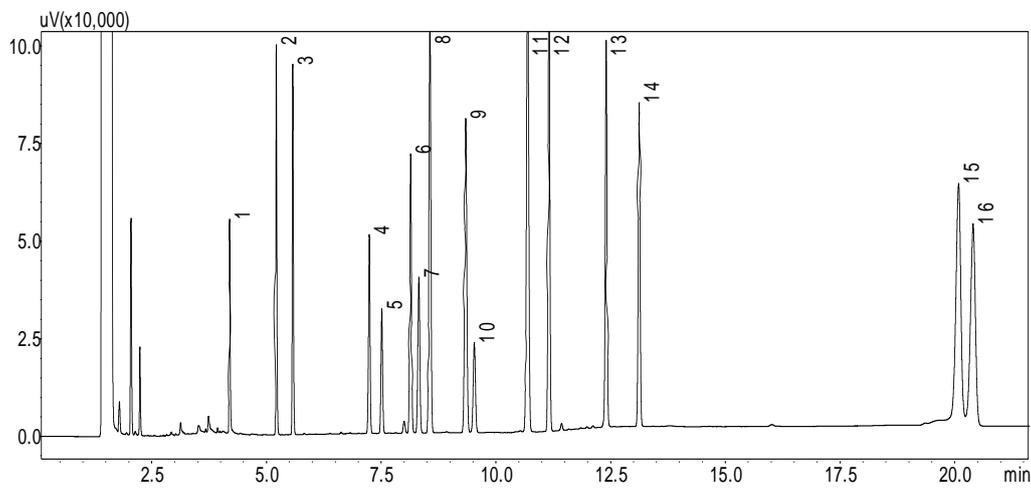


图 2.2 农药标准溶液的色谱图

Fig.2.2-The chromatogram of pesticides standard

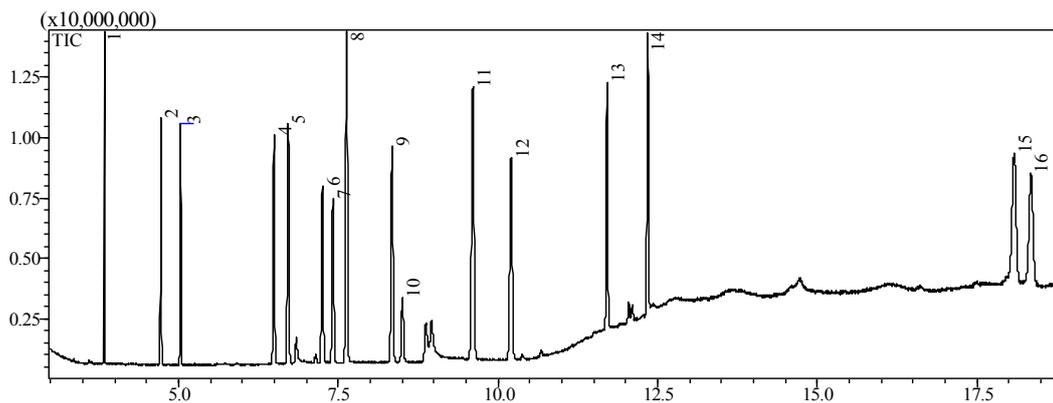


图 2.3 农药标准溶液的 TIC 图

Fig.2.3-The TIC of pesticides standard

GC-FID 色谱条件

色谱柱：ZB-1701 (30m×0.32mm×0.25μm)，载气 N₂，柱流量：2.20mL/min，分流进样，分流比：5：1，进样口：260℃；柱温：70℃---39℃/min---210℃---3℃/min---230℃---30℃/min---270℃ (10.0min)，检测器：290℃，尾吹气 (N₂)：30mL/min,氢气：45mL/min,空气：400mL/min，进样量：1μL。

GC-MS 条件:

色谱柱: ZB-1701 (30m×0.32mm×0.25μm), 载气: He 气, 进样口: 260℃; 分流进样; 分流比: 5: 1; 进样量: 1μL; 柱流量: 2.20mL/min; 柱温: 70℃---39℃/min---210℃---3℃/min---230℃--30℃/min---270℃ (7.0min), 电离方式: EI, 解离电压: 70eV, 离子源温度: 200℃, 接口温度: 230℃。离子检测模式: SCAN, 溶剂切除时间: 2.5min, 扫描时间: 3.0min-18.79min, 扫描范围: 45-450, 检测器增益方式, 绝对值: 1.00KV。

色谱峰: 1.甲胺磷、2.异丙威、3.仲丁威、4.久效磷、5.乐果、6.百菌清、7.毒死蜱、8.甲基对硫磷、9.三唑酮、10.对硫磷、11.二十四烷 (内标物)、12.噻嗪酮、13.烯啶醇、14.三唑磷、15.高效氯氰菊酯 I、16.高效氯氰菊酯 II

2.3.2 准确度实验

向已知含量的农药试样中分别添加三个不同浓度水平的各农药标样, 分别进样测定其回收率, GC-FID分析结果见表2.1, GC-EI-MS-SCAN分析结果见表2.2。

表2.1 方法GC-FID的添加回收率实验结果
Tab.2.1-The result of the recovery by GC-FID

农药名称	添加浓度 (mg/ml)	回收率 (%)	添加浓度 (mg/ml)	回收率 (%)	添加浓度 (mg/ml)	回收率 (%)
仲丁威	0.05	103.1	0.5	91.5	1.0	90.8
异丙威	0.05	97.6	0.5	101.9	1.0	92.3
噻嗪酮	0.1	102.4	0.5	98.6	1.0	91.4
三唑酮	0.1	95.6	0.5	95.2	1.0	92.7
烯啶醇	0.1	98.7	0.5	95.8	1.0	91.4
高效氯氰菊酯	0.2	99.8	0.5	93.6	1.0	96.8
三唑磷	0.1	94.1	0.5	92.4	1.0	90.2
百菌清	0.1	100.1	0.5	104.1	1.0	98.9
毒死蜱	0.1	104.6	0.5	102.6	1.0	99.7
乐果	0.1	105.4	0.5	98.1	1.0	92.4

表2.2 方法GC-EI-MS-SCAN的添加回收率实验结果
Tab.2.2-The result of the recovery by GC-EI-MS-SCAN

农药名称	添加浓度 (mg/ml)	回收率 (%)	添加浓度 (mg/ml)	回收率 (%)	添加浓度 (mg/ml)	回收率 (%)
------	-----------------	------------	-----------------	------------	-----------------	------------

仲丁威	0.05	105.2	0.5	93.6	1.0	88.8
异丙威	0.05	100.2	0.5	107.9	1.0	86.3
噻嗪酮	0.1	102.4	0.5	104.6	1.0	90.4
三唑酮	0.1	92.6	0.5	92.7	1.0	91.5
烯唑醇	0.1	94.7	0.5	93.2	1.0	98.2
高效氯氰菊酯	0.2	90.6	0.5	90.8	1.0	96.9
三唑磷	0.1	92.4	0.5	96.6	1.0	92.6
百菌清	0.1	104.4	0.5	102.2	1.0	93.7
毒死蜱	0.1	103.1	0.5	102.9	1.0	94.2
乐果	0.1	108.1	0.5	93.3	1.0	94.3

实验结果表明 GC-FID 添加回收率在 90.2%–105.4% 之间, GC-EI-MS-SCAN 添加回收率在 86.3%–108.1% 之间, 方法 GC-FID 的添加回收率优于方法 GC-EI-MS-SCAN。

2.3.3 精密度实验

将用标准方法分析得知含量的试样, 按照 2.2.2 中 GC-FID、GC-EI-MS-SCAN 的色谱条件, 平行测定 5 次, 两种方法对各组分测定的结果及标准偏差见表 2.3。

表 2.3 精密度实验结果
Tab. 2.3-The result of the precision

农药名称	测定平均值	RSD (%)	测定平均值	RSD (%)
	GC-FID	GC-FID	GC-EI-MS	GC-EI-MS
20%仲丁威EC	20.18%	0.09	20.32%	0.15
20%异丙威EC	19.87%	0.37	19.65%	0.64
25%噻嗪酮WP	25.63%	0.53	25.82%	0.87
15%三唑酮WP	14.74%	0.19	14.30%	0.94
12.5%烯唑醇WP	12.20%	1.18	12.38%	1.89
4.5%高效氯氰菊酯EC	4.28%	3.56	4.18%	4.56
20%三唑磷EC	19.62%	0.04	19.87%	0.76
75%百菌清WP	75.32%	0.04	75.02%	0.24

20%毒死蜱EC	19.75%	0.86	19.32%	1.45
40%乐果EC	39.87%	1.12	39.45%	1.69

注：“EC”表示乳油，“WP”表示可湿性粉剂

从表 2.3 得知，方法 GC-FID 的相对标准偏差在 0.09%-3.56%之间，方法 GC-EI-MS-SCAN 的相对标准偏差在 0.15%-4.56%之间，方法 GC-FID 的精密度结果优于方法 GC-EI-MS-SCAN。

2.3.4 实际样品定量分析结果

将课题中农药制剂样品，用产品包装上明示的标准检验方法检验，并与课题中两种分析方法的定量结果作一对照，结果见表 2.4。

表2.4 定量分析结果对照
Tab.2.4-The comparison of the quantitative result

产品名称	依据标准	GC-FID	E_r (%)	GC-EI-MS	E_r (%)
	检验结果	分析结果	GC-FID	分析结果	GC-EI-MS
20%仲丁威EC	20.08%	20.18%	0.50	20.32%	1.20
20%异丙威EC	19.94%	19.87%	-0.35	19.65%	-1.45
25%噻嗪酮WP	25.44%	25.63%	0.75	25.82%	1.49
15%三唑酮WP	15.01%	14.74%	-1.80	14.30%	-4.73
12.5%烯唑醇WP	12.14%	12.20%	0.49	12.38%	1.98
4.5%高效氯氰菊酯EC	4.45%	4.28%	-3.82	4.18%	-6.07
20%三唑磷EC	19.46%	19.62%	0.82	19.87%	2.11
75%百菌清WP	75.10%	75.32%	0.29	75.42%	0.43
20%毒死蜱EC	19.76%	19.75%	-0.05	19.32%	-2.23
40%乐果EC	39.64%	39.87%	0.58	39.45%	-0.48

注：“ E_r ”表示相对误差

从表2.4得知，采用方法GC-FID定量优于方法GC-EI-MS-SCAN，对于农药质量分析属于常量分析，对准确度及精密度要求较高，建议采用GC-FID进行定量分析。

2.3.5 实际样品定性分析结果

选取某农药厂家单剂农药（4.5%高效氯氰菊酯乳油）的分析结果，表明

GC-EI-MS用于农药市场的监督、管理的重要意义，试样（4.5%高效氯氰菊酯乳油）的GC-FID色谱图见图2.4。

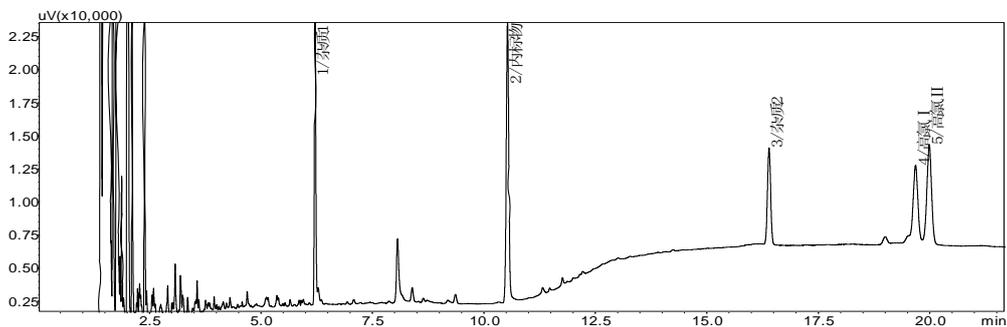


图2.4 试样的GC-FID色谱图

Fig.2.4-The chromatogram of pesticides sample by GC-FID

GC-FID 色谱条件

色谱柱：ZB-1701（30m×0.32mm×0.25μm），载气 N₂，柱流量：2.20mL/min，分流进样，分流比：5：1，进样口：260℃；柱温：70℃---39℃/min---210℃---3℃/min---230℃---30℃/min---270℃（10.0min），检测器：290℃，尾吹气（N₂）：30mL/min,氢气：45mL/min,空气：400mL/min，进样量：1uL。

峰：1、杂质1；2、内标物（二十四烷）；3、杂质2；4、高效氯氰菊酯I、5、高效氯氰菊酯II

从图 2.4 可以看出，在试样（4.5%高效氯氰菊酯乳油）中有两个杂质，即添加了两个标示外成分，应用 GC-FID 根本无法对其定性，采用方法 GC-EI-MS-SCAN 分析试样，其 TIC 图见图 2.5，扣除背景干扰，杂质 1 的质谱图见图 2.6，杂质 2 质谱图见图 2.7，杂质 1 与杂质 2 的性质见表 2.5。

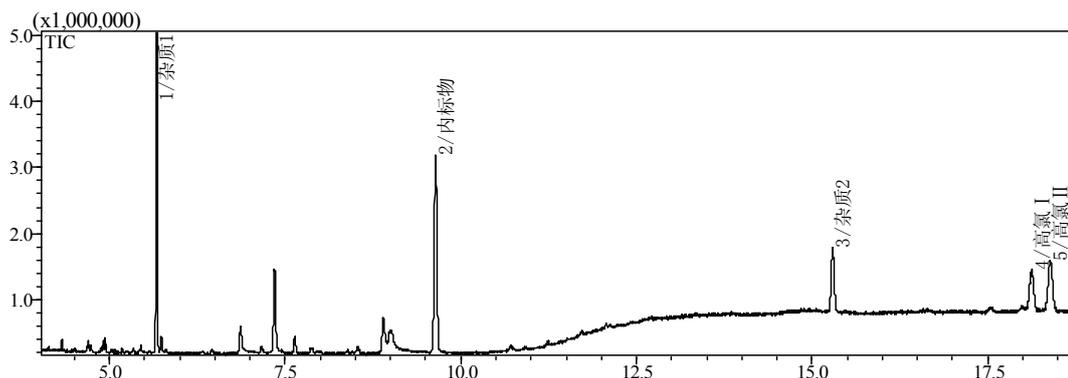


图 2.5 试样的 GC-EI-MS-SCAN 的 TIC 图

Fig.2.5-The TIC of pesticides sample by GC-EI-MS-SCAN

GC-MS 条件：

色谱柱：ZB-1701（30m×0.32mm×0.25μm），载气：He 气，进样口：260℃；分流进样；分流比：5：1；进样量：1μL；柱流量：2.20 mL/min；柱温：70℃---39℃/min---210℃---3℃/min---230℃---30℃/min---270℃

(7.0min), 电离方式: EI, 解离电压: 70eV, 离子源温度: 200℃, 接口温度: 230℃。离子检测模式: SCAN, 溶剂切除时间: 2.5min, 扫描时间: 3.0min-18.79min, 扫描范围: 45-450, 检测器电压: 绝对值: 1.00KV。

峰: 1、杂质 1; 2、内标物 (二十四烷); 3、杂质 2; 4、高效氯氰菊酯 I、5、高效氯氰菊酯 II

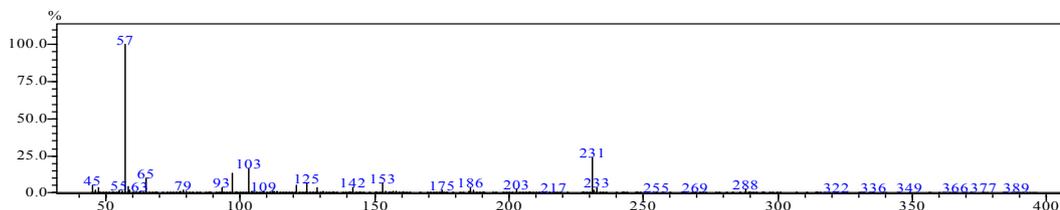


图2.6 全扫描方式下杂质1的质谱图
Fig.2.6- The mass spectrum of impurity 1 by SCAN

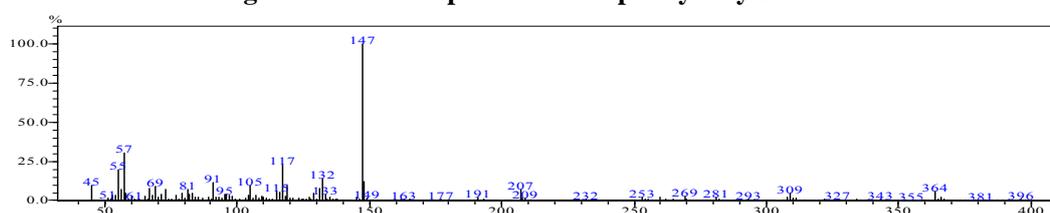


图2.7 全扫描方式下杂质2的质谱图
Fig.2.7- The mass spectrum of impurity 2 by SCAN

表2.5 杂质1与杂质2的性质

Tab. 2.5-The character of impurity 1 and impurity 2

名称	分子式	分子量	CAS	结构	系统命名
杂质 1 特丁硫磷	$C_9H_{21}O_2PS_3$	288	13071 -79-9		0, 0-二乙基-S-特 丁硫基甲基二硫代 磷酸酯
杂质 2 达螨灵	$C_{19}H_{25}ClN_2OS$	364	96489 -71-3		2-特丁基-5-(4- 特丁基苄硫基)-4- 氯-3(H) 哒嗪-3- 酮

特丁硫磷和达螨灵都是有机类农药, 达螨灵属于有机氮类农药, 相似度: 94 谱库 (NTST05S); 特丁硫磷属于有机磷类农药, 相似度: 96, 谱库 (NTST05S)。其中特丁硫磷是剧毒农药, 现已被限制使用, 农药厂家在经济利益的驱使下, 在中等毒性的农药制剂 (4.5% 高效氯氰菊酯乳油) 中添加剧毒农药 (特丁硫磷) 已达到增强该农药制剂防治效果的目的, 但此行为严重违反农药管理规定, 该类农药产品进入农药市场, 必然导致坑农、害农事件的发生; 对农产品的出口、摄食安全都带来了严重的问题, 还有可能产生药害, 带来严重的、无法挽回的后果; 同时也给农药监督与管理部门带来了一定的困难。因此, 加强对农药市场的监督

与管理，必须相应地提高实验室的仪器条件，GC-EI-MS是必不可少的定性工具。

2.4 结论

使用GC-FID、GC-EI-MS-SCAN两种方法同时测定了仲丁威等14种农药，对两种定性、定量方法作了比较，结果见表2.6。

表2.6 两种方法的比较
Tab.2.6-The comparison of two methods

对 象 \ 方 法	GC-FID	GC-EI-MS-SCAN
定性准确度	有局限	准确
添加回收率	90.2%~105.4%	86.3%~108.1%
相对标准偏差	0.09%~3.56%	0.15%~4.56%
相对误差	-3.82%~0.82%	-6.07%~2.11%

从表2.6知：方法GC-EI-MS-SCAN的定性准确度显著高于方法GC-FID，而对于农药质量分析属于常量分析，对准确度及精密度要求较高，定量建议最好采用GC-FID。

方法同时测定毒死蜱等14种农药，方法具有分离度高，定性、定量准确等特点，用于测定包含上述部分或者全部的农药试样，不失为一种准确可靠、简单易行的通用方法，能同时完成定性、定量及违禁成分的分析，该方法特别适用于农药管理部门监督、管理农药市场，也可用于指导建立复配农药的分析方法，均具有很好的适用价值。

本课题在云南省全省范围内抽检了水稻稻飞虱、小麦条锈病主要用药进行质量分析，对全省昭通、楚雄、文山、大理、普洱、保山、曲靖、临沧、德宏、红河、玉溪等11个地州的128个农药门市抽样，涉及省内外农药厂家共73家，抽检162个样，其中单剂农药128个样，复配农药34个样，复配农药比例：20.98%；用HPLC分析了2种农药，共22个样，其余全部用气相色谱内标法分析，结果令人十分担忧，农药标签抽查不合格率达到46.6%，农药厂家在经济利益驱使下，在农药标签上夸大农药药效、擅自扩大农药的使用范围、对复配制剂不标明每一种单剂的含量、擅自盗用其他农药生产企业的生产许可证等等。标签抽查结果表明，加强农药市场的监督和管理，是一件迫在眉睫的事情，应引起相关职能部门的高度重视。2008

年1月8日农业部颁布并实施了《农药标签和说明书管理办法》，希望对农药市场的标签管理能起到确实有效的作用。

实验分析结果见表2.7，水稻稻飞虱、小麦条锈病主要用药的不合格率达到20.37%，复配农药的不合格率（29.41%）显著高于单剂农药（17.97%）。

表2.7 农药有效成分分析结果
Tab.2.7-The result of the active ingredient of the pesticide

名称	不合格数（个） /不合格率	不合格原因及所占比例		
		零含量数（个） /所占比例	含量不足数(个) /所占比例	其他（个） /所占比例
农药制剂 (162个)	33个/20.37%	13个/8.02%	12个/7.41%	8个/4.94%
单剂农药 (128)	23个/17.97%	12个/9.37%	6个/4.67%	5个/3.91%
复配农药 (34个)	10个/29.41%	1个/2.94%	6个/17.65%	3个/8.82%

基于上述的分析结果，对云南省农药市场管理与监督提出以下几点建议：

- ① 建议农药管理部门，指导农业生产时，优先推荐使用单剂农药。
- ② 大型农药生产厂家在生产技术、管理、农药质量上优于小企业，实验中分析了某大型企业不同批次的农药制剂，未发现质量不合格产品。
- ③ 销售商应本着对消费者负责的态度，对标签抽查严重不合格产品，尽快上报相关职能部门，完成质量分析，把损失减低到最小程度；实验中发现标签严重不合格农药产品，其质量分析一定也存在问题。
- ④ 实验中，发现部分农药厂家在农药制剂中添加标示外成分，但是不严重，较为严重的现象是：农药制剂中有效成分含量为零、有效成分含量严重不能达到标签所示。

第三章 GC-NCI-MS-SIM分析粮谷中三类农药残留

3.1 引言

气质联用仪是分析仪器中较早实现联用技术的仪器，在所有联用技术中气质联用发展最完善，应用最广泛。气相色谱仪分离样品中各组分，起着样品制备的作用；接口把气相色谱流出的各组分送入质谱进行检测，起着气相色谱和质谱之间适配器的作用；质谱对接口依次引入的各组分进行定性定量分析，成为气相色谱仪的检测器。

质谱仪主要由真空系统、电离源、质量分析器及检测器组成，其中由于电离源不同导致的电离方式的不同在农药残留分析中有特殊意义。本文对两种电离方式（EI、NCI）作简单介绍。

1、原理

EI 源是一种硬源，当气态的分子进入离子源，遇到由高温铯或者钨灯丝（高达 2000℃）产生的高速电子束，互相碰撞，失去一个电子变成分子离子，当电子流具有足够大的能量、分子离子不稳定时，分子离子可在极短的时间内进一步断裂，产生较低质量的碎片离子和中性分子。

NCI 是一种软电离源，在离子源中通入反应气（甲烷、异丁烷、氨气等），由灯丝发出的电子，与反应气发生碰撞使反应气被离子化，同时通过碰撞，电子能量减少，使灯丝发射的高能量、高速电子转换成易于被捕获的低能量，低速的电子。由于产生负离子的电子的能量特别小，以致不能使化合物断裂为太多小的碎片离子，因此与 EI 源相比，NCI 的质谱图碎片离子较少。

2、离子源结构

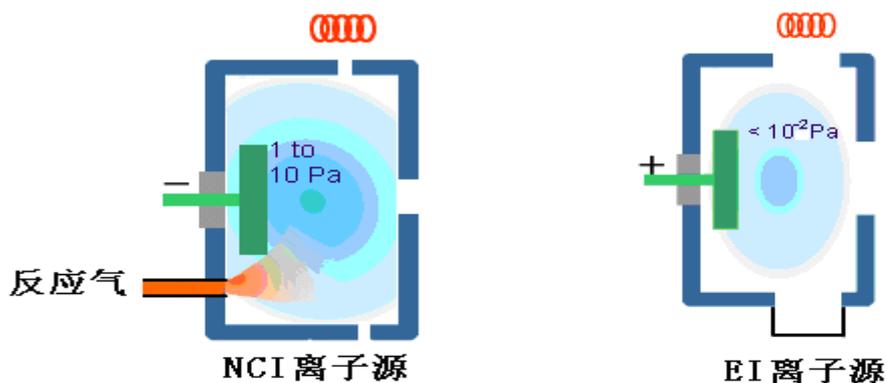


图 3.1 NCI 和 EI 离子源

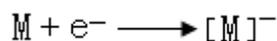
3、区别

- ① EI源的排斥极为正，产生的是正离子，将所有进入离子源的气化分子都按规律断裂成分子离子、碎片离子或者中性分子；NCI源的排斥极为负，产生的是负离子，气化分子主要通过捕获电子而被离子化，主要将含有电负性原子的气化分子按规律断裂成分子离子、碎片离子。
- ② EI源的真空度明显高于NCI源（NCI通入反应气）。
- ③ EI源通过捕集电流控制灯丝，而NCI源通过总电流控制灯丝。

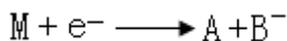
从理论上可知，EI源没有选择性，将所有进入EI源的气化分子断裂生成分子离子、碎片离子都“送入”质量分析器，而NCI源具有很好的选择性，主要将含有电负性原子的气化分子断裂成负离子，“送入”质量分析器。

现将负化学源电离模式下，一些主要的离子化反应概括如下^[74]：

残余电子捕获：化合物分子直接捕获0-2ev动能的电子，化合物分子没有被碎片化。



分解电子捕获：化合物分子捕获0-15ev动能的电子，电子多余的能量会导致分子产生碎片离子。



根据NCI源的特殊的选择性及目前农药残留分析的特点，筛选出残留时间较长的有机氯、应用范围较广的拟除虫菊酯类和有机氮农药进行分析，三类农药分子含有-Cl-、-Br-、或者-COOR等电负性基团，且国内在GC-NCI-MS-SIM方面的研究开展较晚，只是针对水果、蔬菜、茶叶中的有机氯、拟除虫菊酯类农药残留进行研究，粮谷中的研究仍然是空白，各种农药的性质见附录表6.1。

3.2 实验部分

3.2.1 仪器与试剂

美国热电菲尼根 Trace DSQII 气相色谱-质谱仪，其中包括 AOC-20i 自动进样器，WBI-2010 进样口，美国热电菲尼根四极杆质量分析器，GCMS solution 工作软件；分析柱为 ZB-50 (30m×0.25mm×0.25μm)，BUCHI R II 型旋转蒸发仪，北京医疗仪器修理厂离心机，天津奥特赛恩斯 AS3120 型超声波清洗器，梅特勒-托利多 AB104-S 分析天平。

农药标准品（百菌清、烯唑醇、三唑酮、溴氰菊酯、α-六六六、β-六六六、

γ -六六六、 δ -六六六、P, P-DDD、O, P-DDT、P, P-DDT、P, P-DDE、甲氰菊酯、氰戊菊酯) 来自国家农药质量监督检验中心。

硅镁吸附剂 60-100 目 (上海化学试剂厂), 650℃灼烧 4 小时, 用前 140℃烘 3 个小时, 备用。

无水硫酸钠 (分析纯) 650℃灼烧 4 小时, 干燥, 备用。

丙酮 (分析纯 重蒸)、乙腈 (分析纯 重蒸)、二氯甲烷 (分析纯 重蒸)、乙酸乙酯 (分析纯 重蒸)、正己烷 (色谱纯)。

3.2.2 溶液的配制

分别准确称取 50mg (精确到 0.1mg) 的农药标准品, 至 50mL 容量瓶中, 用丙酮定容, 得到 1mg/mL 农药单标标准溶液, 各取 10 μ L 单标溶液到 5mL 的容量瓶中, 得到 2 μ g/mL 的混合标准溶液。分别准确取 5 μ L、25 μ L、50 μ L、125 μ L、250 μ L 的单标标准溶液到 5mL 的容量瓶中, 得到浓度分别是 1 μ g/mL、5 μ g/mL、10 μ g/mL、25 μ g/mL、50 μ g/mL 混合标准溶液。

3.2.3 样品前处理

称取过 40 目的试样样品 5.0g (精确到 0.01g) 于 100mL 玻璃离心管中, 加入 3.0g 无水硫酸钠, 40.0mL V (正己烷) / V (丙酮) = 1:1 混合提取溶剂, 超声提取 20min, 离心 5min (3000r/min), 将上层清液转入 250mL 的圆底烧瓶中, 再次向离心管中加入 40.0mL V (正己烷) / V (丙酮) = 1:1, 超声提取 20min, 离心 5min (3000r/min), 两次的提取液合并于 250mL 圆底烧瓶中, 旋转蒸发仪 (40℃) 浓缩近干, 用正己烷: 乙酸乙酯 = 4:1 (V/V) 定容至 5mL, 过柱, 层析柱 (40cm \times 2.0cm) 中依次装入 2cm 高无水硫酸钠, 5.0g 硅镁吸附剂, 2cm 高无水硫酸钠, 用 100mL 正己烷: 乙酸乙酯 = 4:1 (V/V) 淋洗, 将滤液在旋转蒸发仪 (40℃) 浓缩近干, 用丙酮定容至 1mL, 用 0.45 μ m 的过滤器过滤, 待测。

3.2.4 色谱条件

经优化的 GC-NCI-MS 条件: 色谱柱 ZB-50 (30m \times 0.25mm \times 0.25 μ m), 载气 He, 柱流量: 1.6mL/min, 分流比: 10:1, 进样口: 280℃, 柱温: 100℃—15℃/min—200℃ (0.1min)—5℃/min—265℃—25℃/min—300℃ (6.0min), 进样量: 1 μ L。电离方式: NCI, 反应气: CH₄, 离子源温度为: 200℃, 接口温度为: 230℃, 检测器增益方式, 相对值: 0.2KV, 扫描间隔: 0.2Sec, 离子检测模式: 选择离子扫描

(SIM)，整个分析过程分为 6 个时间段，每个时间段扫描 1~6 个农药，每种农药选择一个定量离子、两个定性离子，14 种农药的分组情况、保留时间、定量离子、参考离子及对应的相对强度见表 3.1。

3.2.5 色谱条件的优化

3.2.5.1 柱子的选择

实验中，尝试了用 ZB-5MS，ZB-1701，ZB-50，发现在中极性柱 ZB-50 上 14 种农药能够很好的被分离。

3.2.5.2 萃取时间的选择

萃取时间的长短也是影响食品中农药残留是否提取完全的一个重要因素，实验中分别选择 5min、10min、15min、20min、25min、30min 作为萃取时间，通过加入标准样品到空白样品中，比较其农药的回收率来确定萃取时间，见图 3.2。图中仅是部分具有代表性的农药标样的回收率随萃取时间的变化情况。从图中可以看出 20min 后，添加回收率随萃取时间的变化很小，实验选择 20min 作为提取时间。

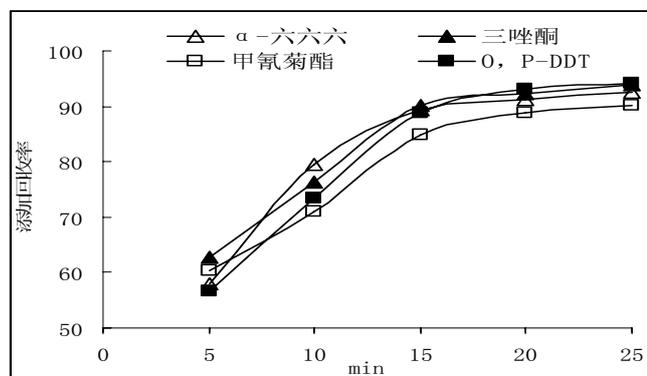


图 3.2 超声波提取时间对添加回收率的影响
Fig.3.2- Effect of ultrasonic extract time on recovery

3.2.5.3 萃取剂的选择

对提取溶液的选择，实验选择常用的提取溶剂：丙酮、乙酸乙酯、二氯甲烷，不同比例的正己烷和丙酮（4:1，1:1，1:4），通过加入标准溶液到空白样品中，比较其添加回收率，选择适合提取 14 种农药萃取剂，结果表明正己烷：丙酮=1:1 (V/V) 的混合提取溶剂提取效果最好。

3.2.6 特征离子的选择

对于农药残留分析,采用选择离子扫描方式,能有效地降低方法的最低检出限,提高信噪比。在全扫描(SCAN)方式下,所有离子的相应信号都被采集,得到总离子流图(TIC),而选择离子扫描模式(SIM),只在选定的时间段内针对目标化合物的2~3个特征离子进行扫描,得到质量色谱图(MC);但由于每个目标化合物只选择2~3个特征离子进行扫描,质谱图提供的离子信息过少,使定性结果存在一定的定性不准确性。为保证准确性,采用保留时间、3个特征离子(1个定量离子、2个参考离子)及相对丰度比作为定性标准,当未知化合物与农药标准品保留时间偏差小于10s,同时二者特征离子丰度比小于20%,可对未知化合物加以确证;采用定量离子的峰面积外标法定量。

采用选择离子模式,首先必须在全扫描模式下得到各待测组分的质谱图,依据质谱图来确定各待测农药标样的特征离子。实验在全扫描模式下得到了各农药标样的质谱图,其中图3.3为百菌清标样的质谱图,图3.4为溴氰菊酯标样的质谱图。

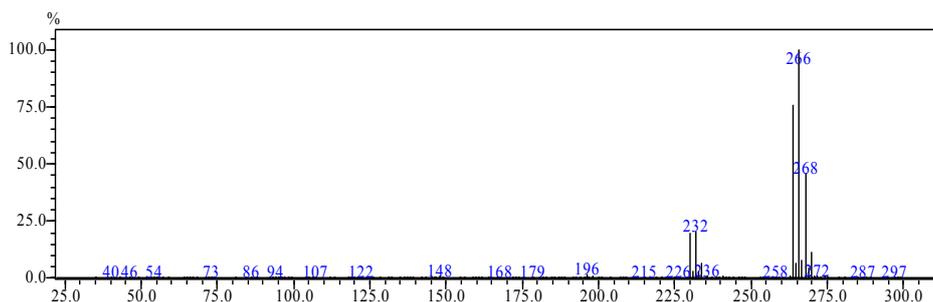


图 3.3 GC-NCI-MS-SCAN 扫描模式下, 百菌清标样质谱图
Fig.3.3-The mass spectrum of chlorothalonil of GC-NCI-MS-SCAN

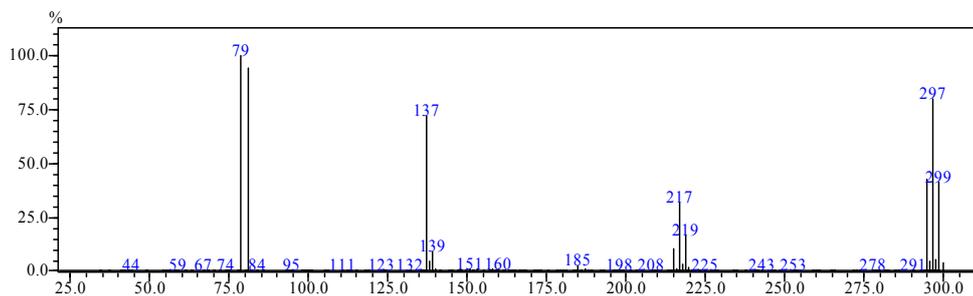


图 3.4 GC-NCI-MS-SCAN 扫描模式下, 溴氰菊酯标样质谱图
Fig.3.4-The mass spectrum of deltamethrin of GC-NCI-MS-SCAN

从百菌清和溴氰菊酯的质谱图,可以看出,NCI 电离方式,产生的离子较少,主要产生化合物的分子离子和碎片离子,如百菌清,得到分子离子峰(266),断裂方式为残余电子捕获;溴氰菊酯的断裂方式为分解电子捕获,产生主要碎片离

子 (79、137、217、297)，且含卤素有机化合物都具有同位素峰，进一步提供了定性的准确性，如从溴氰菊酯的碎片离子 (295、297、299) 得知：溴氰菊酯含有两个溴原子。

部分有机氯农药 (HCHs、DDTs) 等的 C-Cl 键易于断裂，其特征离子为 m/z 35 (Cl^-) 和 m/z 71 (HCl_2^-)，而高质量区的离子相对丰度较小；拟除虫菊酯和有机氮类农药主要断裂方式为残余电子捕获，得到相对丰度较强的碎片离子峰，各农药在 NCI 电离方式下的主要离子 (分子离子、参考离子) 见表 3.1。

根据定性和定量的方法，定量离子与参考离子的选择应考虑以下几点：①定量离子的相对强度应尽可能大，以确保检测灵敏度；②参考离子质量数应当是唯一的，尽量不与表征其它组分的特征离子质量数相同，从而使每一个选定的质量数都具有专属性，并尽可能是农药标样的分子离子峰。③选择与柱流失碎片离子不同的离子作为定量离子或者参考离子。④选择重现性较好的离子作为定量离子或者参考离子。根据上述的筛选方式，对各个农药标样的质谱图进行考察后，14 种测定农药的保留时间、分组设定时间、定量离子、参考离子及相对强度见表 3.1。

表 3.1 农药标样的定量离子和参考离子
Tab.3.1-The quantitative ions and reference ions of pesticides standard

名称	保留时间 min	分组设定时间 min	定量离子	参考离子 I	参考离子 II
α -BHC	8.89	5.0-12.5	71 (100)	35 (67)	255 (38)
γ -BHC	9.87	5.0-12.5	35 (100)	71 (85)	255 (52)
β -BHC	10.47	5.0-12.5	35 (100)	71 (74)	255 (17)
δ -BHC	11.15	5.0-12.5	71 (100)	35 (83)	255 (27)
百菌清	11.55	5.0-12.5	266 (100)	264 (76)	268 (47)
三唑酮	12.28	5.0-12.5	127 (100)	166 (50)	129 (32)
P, P-DDE	14.96	12.5-16.0	35 (100)	37 (29)	34 (1)
烯啶醇	16.55	16.0-19.0	289 (100)	291 (34)	290(17)
P, P-DDD	16.77	16.0-19.0	35 (100)	37(29)	71(7)
O, P-DDT	16.90	16.0-19.0	35 (100)	37(30)	71(10)
P, P-DDT	17.84	16.0-19.0	35 (100)	37(28)	71(29)
甲氰菊酯	19.69	19.0-22.5	141 (100)	142(9)	143(1)
氰戊菊酯	24.84 25.25	22.5-26.0	211 (100)	213(13)	212(34)
溴氰菊酯	26.84	26.0-27.0	79 (100)	137 (72)	297(80)

根据 SCAN 扫描方式下溴氰菊酯的质谱图，图 3.4，确定其定量离子为 79，参考离子为 137，297，在 SIM 模式下，定量离子、参考离子的 MC 图，见图 3.5。

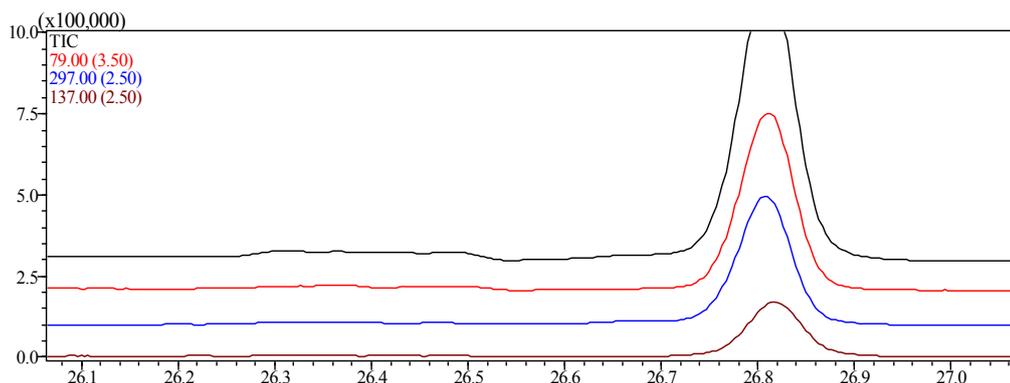


图 3.5 GC-NCI-MS-SIM 扫描方式下, 溴氰菊酯的质量色谱图
Fig.3.5-The MC of deltamethrin by GC-NCI-MS-SIM

从图 3.5 可知, 采用 NCI 电离方式, 质谱仪只对含电负性原子的有机物有较好的响应, 进一步采用 SIM 扫描方式, 在时间段 (26.0~27.0min), 质谱仪选择性地扫描溴氰菊酯的特征离子 (79、137、297), 得到 MC 图的基线较为平滑, 信噪比较高, 有效地降低了方法的最低检出限, 提高了方法的选择性和抗干扰能力。

3.3 结果与讨论

3.3.1 线性范围、标准曲线方程与相关系数

将 3.2.2 中的不同浓度的混合标准溶液, 按 3.2.4 的色谱条件, 采集 GC-NCI-MS-SIM 的谱图, 在 $1\mu\text{g}/\text{mL}$ - $50\mu\text{g}/\text{mL}$ 线性范围内, 以外标法作为定量方法, 标准曲线方程及相关系数见表 3.2。部分农药的标准曲线见图 3.6, 标准曲线方程中 Y 为质量色谱图中定量离子峰面积, X 为农药的浓度。

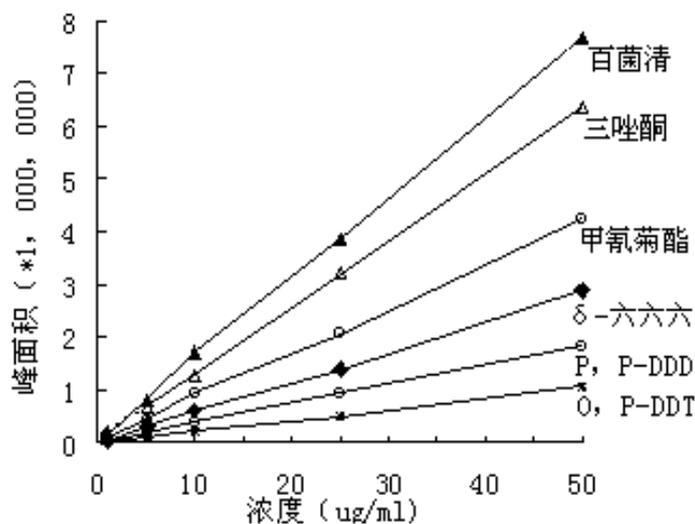


图 3.6 部分农药的标准曲线
Fig.3.6- The standard curve of some pesticides

表 3.2 农药线性范围、标准曲线方程和相关系数

Tab.3.2-The linear range, regression equation and correlation coefficient of pesticides

农药名称	线性范围 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	标准曲线方程	相关系数
α -BHC	1-50	$Y=44040X-1168.1$	0.9992
γ -BHC	1-50	$Y=57780X-1532.5$	0.9992
β -BHC	1-50	$Y=4385.6X+2419.9$	0.9997
δ -BHC	1-50	$Y=57734X+1039.6$	0.9991
百菌清	1-50	$Y=152019X+69847$	0.9994
三唑酮	1-50	$Y=126125X+56082$	0.9999
P, P-DDE	1-50	$Y=53143X+6568.4$	0.9999
烯唑醇	1-50	$Y=205776X+64422$	0.9996
P, P-DDD	1-50	$Y=35815X+23849$	0.9994
O, P-DDT	1-50	$Y=24574X+8580.6$	0.999
P, P-DDT	1-50	$Y=21072X+4990.2$	0.9993
甲氰菊酯	1-50	$Y=84265X+27385$	0.9994
氰戊菊酯	1-50	$Y=85491X+8767$	0.9997
溴氰菊酯	1-50	$Y=4385.6X+2419.9$	0.9997

从线性相关系数可以看出，相关系数都在 0.999 以上，峰面积与浓度之间有很好的相关性。

3.3.2 方法的添加回收率与精密度

14 种农药按添加水平为 0.8mg/kg, 2mg/kg 两个浓度水平在试样云南米、面粉中进行加标回收率实验，每个浓度水平平行测定 5 次，每个浓度水平做一个基质加标，每批样品做一个空白，回收率为样品加标回收平行测定 5 次的平均值，精密度以样本数为 5 的相对标准偏差表示，添加回收率与精密度结果见表 3.3。

表 3.3 方法的添加回收率和精密度

Tab.3.3-The recovery and precision of method

名称	添加浓度	回收率 %	RSD %	添加浓度	回收率 %	RSD %
	(云南米) mg/mg			(面粉) mg/kg		
α -BHC	0.8	102.2	3.25	0.8	109.6	0.67
	2	91.5	4.56	2	88.1	1.98

γ-BHC	0.8	93.6	5.96	0.8	89.4	5.21
	2	100.4	2.87	2	101.2	6.42
β-BHC	0.8	95.4	4.31	0.8	89.5	3.69
	2	109.7	3.93	2	108.4	5.65
δ-BHC	0.8	103.4	3.56	0.8	108.6	4.78
	2	91.6	4.21	2	87.1	5.13
百菌清	0.8	87.4	8.96	0.8	77.5	7.84
	2	94.1	7.47	2	85.9	8.46
三唑酮	0.8	89.4	7.82	0.8	88.7	8.13
	2	97.6	7.69	2	75.4	7.95
P, P-DDE	0.8	92.1	4.59	0.8	91.2	6.45
	2	100.6	3.64	2	104.3	5.89
烯唑醇	0.8	87.3	8.93	0.8	75.2	8.79
	2	87.5	9.87	2	86.3	7.96
P, P-DDD	0.8	88.7	6.32	0.8	100.4	6.56
	2	101.4	5.83	2	81.4	5.62
O, P-DDT	0.8	82.4	4.36	0.8	108.3	3.64
	2	101.9	5.91	2	90.4	4.17
P, P-DDT	0.8	83.5	5.43	0.8	101.3	4.91
	2	109.2	6.58	2	95.8	3.65
甲氰菊酯	0.8	94.1	7.43	0.8	81.9	6.32
	2	87.2	6.54	2	80.9	5.47
氰戊菊酯	0.8	92.3	8.94	0.8	81.2	6.52
	2	89.1	8.46	2	94.7	7.61
溴氰菊酯	0.8	78.4	8.22	0.8	82.6	9.84
	2	75.6	9.83	2	80.4	9.25

从结果可以看出添加回收率在 75.2%-109.7%之间，相对标准偏差在 0.67%-9.87%，能满足农药残留分析的要求。

3.3.3 方法的最低检出限

在农药残留分析中，最低检出限是评估方法有效性的一个重要指标，只有分析方法的检出限明显低于最大残留限量时，才能对样本中待测物在最大残留限量水平进行准确测定。方法的最低检出限由仪器的最小检出量、试样质量和分析操作中的浓缩比例求得，按公式（2）进行计算：

$$\text{最低检出限} = \frac{\text{最小检出量} \times \text{定容体积}}{\text{试样质量} \times \text{进样量}} \quad (2)$$

式（2）中，最小检出量为能产生 3 倍噪音的目标物的最小质量，一般以纳克（ng）表示，本方法按试样质量：5.0g，定容体积：1.0mL，进样量：1.0μL，14 种农药的最低检出限见表 3.4，并将 14 种农药在 GB/T2763-2005 和欧盟中的最大残留限量列入表 3.4。

表 3.4 方法的最低检出限及食品中的最大残留限量
 Tab.3.4-The limit of detection of the method and the maximum residue limits in foods

农药名称	方法的最低检出限 mg/kg	GB/T2763-2005 (mg/kg)	欧盟(mg/kg)
α -BHC	0.00002	0.05	0.02 (大米)
γ -BHC	0.00004	0.05	0.02 (大米)
β -BHC	0.00002	0.05	0.02 (大米)
δ -BHC	0.00001	0.05	0.02 (大米)
百菌清	0.00002	0.2	0.01 (大米)
三唑酮	0.00001	0.5	0.1 (大米)
P, P-DDE	0.000012	0.05	0.05 (大米)
烯唑醇	0.000015	0.05	-----
P, P-DDD	0.00004	0.05	0.05 (大米)
O, P-DDT	0.00002	0.05	0.05 (大米)
P, P-DDT	0.00004	0.05	0.05 (大米)
甲氰菊酯	0.000022	0.5 (叶菜类蔬菜)	0.02 (大米)
氰戊菊酯	0.000044	0.2	0.02 (大米)
溴氰菊酯	0.00018	0.5	0.1 (小麦)

从表 3.4 中可以看出，本文研究的分析方法的最低检出限在 0.01-0.18 μ g/kg 之间，低于欧盟和我国对于 14 种农药在糙米中允许的最大残留限量，符合农药残留分析要求。

3.3.4 标样谱图与前处理方法的净化效果

将 3.2.2 中 2 μ g/ml 的混合标准溶液，按 3.2.4 的色谱条件，得混合标样的质量色谱图，见图 3.7；在面粉试样中添加 0.8mg/kg 标样，经 3.2.3 前处理方法处理，加标样品质量色谱图见图 3.8。图 3.7 的局部放大图见图 3.9，图 3.8 的局部放大图见图 3.10。

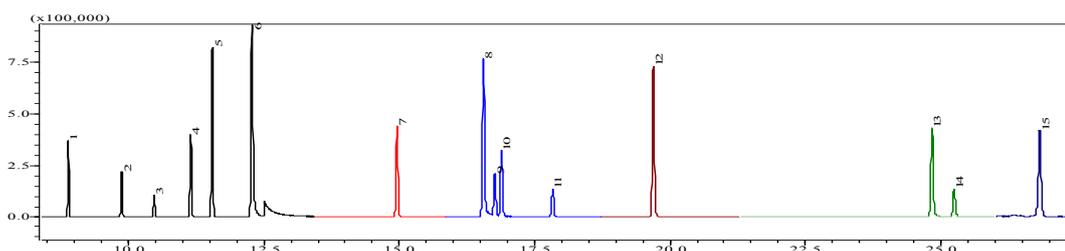


图 3.7 GC-NCI-MS-SIM 农药标样的质量色谱图
Fig.3.7-The MC of pesticides standard by GC-NCI-MS-SIM

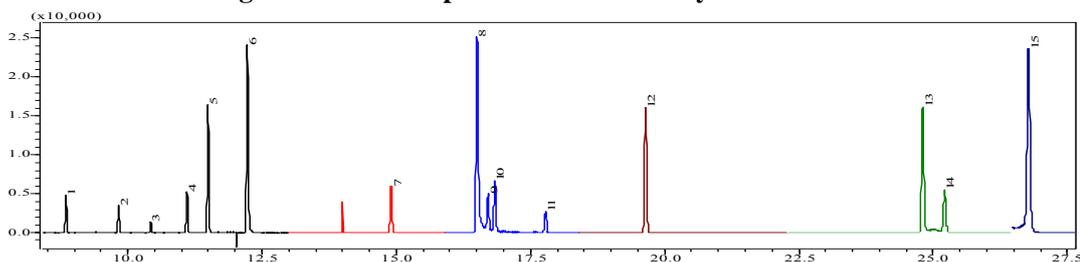


图 3.8 GC-NCI-MS-SIM 面粉试样添加 0.8mg/kg 的质量色谱图

Fig.3.8-The MC of blank flour extract spiked with 0.8mg/kg standards by GC-NCI-MS-SIM

GC 条件：色谱柱 ZB-50 (30m×0.25mm×0.25μm)，载气 He，柱流量：1.6mL/min，分流比：10：1，进样口：280℃，柱温：100℃---15℃/min---200℃ (0.1min)---5℃/min---265℃---25℃/min---300℃ (6.0min)，进样量：1uL。

MS 条件：电离方式：NCI，反应气：CH₄，离子源温度为：200℃，接口温度为：230℃。离子检测模式：选择离子扫描 (SIM)，检测器增益方式，相对值：0.2KV，扫描间隔：0.2Sec。

色谱峰：1、α-BHC，2、γ-BHC，3、β-BHC，4、δ-BHC，5、百菌清，6、三唑酮，7、P，P-DDE，8、烯唑醇，9、P，P-DDD，10、O，P-DDT，11、P，P-DDT，12、甲氰菊酯，13、氰戊菊酯 I、14、氰戊菊酯 II、15、溴氰菊酯

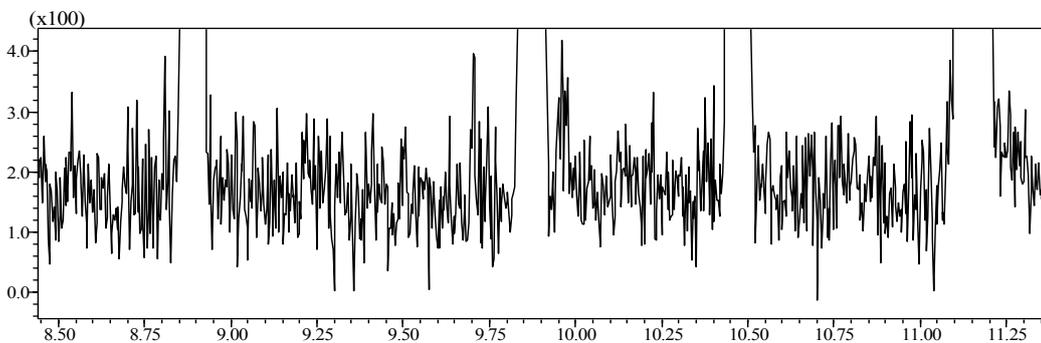


图 3.9 图 3.7 的局部放大图
Fig.3.9-The part of Fig.3.7

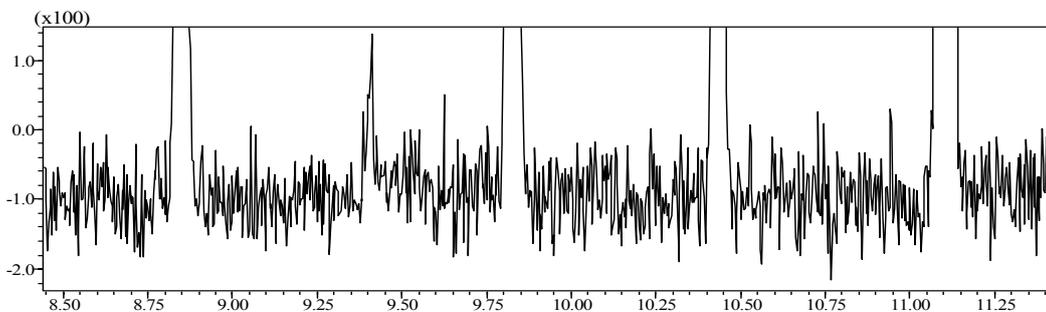


图 3.10 图 3.7 的局部放大图
Fig.3.10-The part of Fig.3.8

从图3.7-3.10可以看出,前处理方法净化效果较好,试样基体的干扰少,噪音很小,当图3.9-3.10的纵坐标相同时,标样噪音水平为:350 μ v,面粉空白加标噪音水平为:360 μ v,表明试样经前处理后,杂质的干扰基本被排除或者质谱仪对杂质没有响应,也证实了特征离子的选择方法是有效的、正确的。

3.3.5 试样分析结果

用 GC-NCI-MS-SIM 分析了云南米、泰国米、面粉、稻谷四类粮谷,泰国米的分析结果的 MC 图见图 3.11,分析结果见表 3.5。

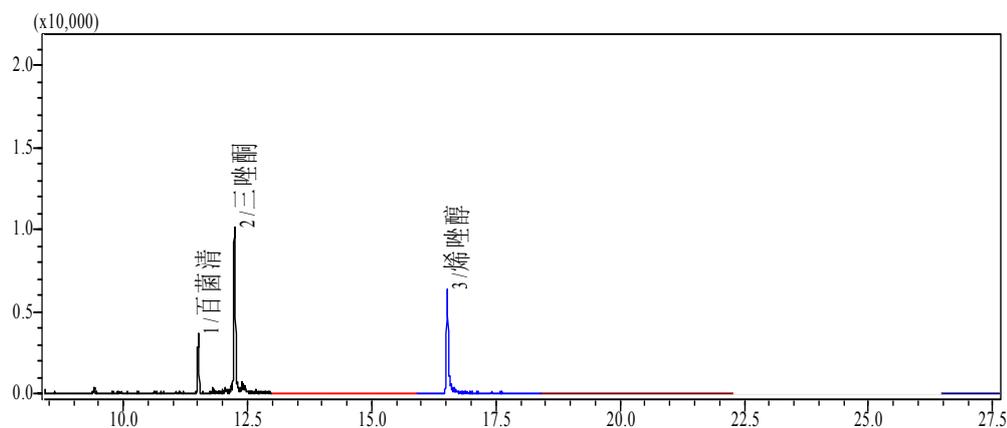


图 3.11 GC-NCI-MS-SIM 分析试样泰国米的 MC 图
Fig.3.11-The MC of Thailand rice by GC-NCI-MS-SIM

GC 条件:

色谱柱 ZB-50 (30m \times 0.25mm \times 0.25 μ m), 载气 He, 柱流量: 1.6mL/min, 分流比: 10: 1, 进样口: 280 $^{\circ}$ C, 柱温: 100 $^{\circ}$ C---15 $^{\circ}$ C/min---200 $^{\circ}$ C (0.1min)---5 $^{\circ}$ C/min---265 $^{\circ}$ C---25 $^{\circ}$ C/min---300 $^{\circ}$ C (6.0min), 进样量:1 μ L。

MS 条件: 电离方式: NCI, 反应气: CH₄, 离子源温度为: 200 $^{\circ}$ C, 接口温度为: 230 $^{\circ}$ C。离子检测模式: 选择离子扫描 (SIM), 检测器增益方式, 相对值: 0.2KV, 扫描间隔: 0.2Sec。

色谱峰: 1、百菌清, 2、三唑酮, 3、烯唑醇

表 3.5 粮谷分析结果表
Tab.3.5-The result of grain

农药名称	云南米	泰国米	面粉	稻谷
δ -BHC	N. D	N. D	N. D	0.25 μ g/kg
百菌清	0.83 μ g/kg	0.52 μ g/kg	0.36 μ g/kg	1.24 μ g/kg
三唑酮	1.84 μ g/kg	1.26 μ g/kg	4.54 μ g/kg	3.68 μ g/kg
烯唑醇	0.97 μ g/kg	0.74 μ g/kg	2.87 μ g/kg	6.74 μ g/kg

注:“N. D”表示未检出

从实验结果可以看出，本实验方法是一种较为理想的含电负性原子的农药残留的分析方法，低至 $0.01\mu\text{g}/\text{kg}$ 的最低检出限，能克服发达国家针对这 3 类农药制定的各种贸易壁垒。

三种供分析的样品中都有残留量很小的百菌清、三唑酮、烯唑醇，用食盐代替粮谷样品，做空白实验，未检测到三种农药，进一步保证分析结果的准确度。

3.4 结论

粮谷试样用丙酮：正己烷=1:1(V/V)超声波提取，硅镁吸附剂柱层析净化，GC-NCI-MS-SIM 分析，在 $1\text{-}50\mu\text{g}/\text{mL}$ 的线性范围内、定量离子的峰面积与浓度有很好的相关性，相关系数都在 0.999 以上，在 $0.8\text{mg}/\text{kg}$ ， $2\text{mg}/\text{kg}$ 两个浓度水平上，大米、面粉中的添加回收率在 75.2%-109.7%之间，相对标准偏差：0.67%-9.87%，低至 $0.01\mu\text{g}/\text{mg}$ 的最低检出限，能克服发达国家针对这 3 类农药制定的各种贸易壁垒。结果表明，该方法简单、快速、准确、选择性好、干扰少，是农药残留分析领域发展前景较好的方法。

第四章 GC-NPD 和 GC-EI-MS-SIM 分析粮谷种三类农药残留

4.1 前言

热离子化检测器 (FTD) 是分析含 N、P 化合物的高灵敏、高选择性的检测器, 又叫 NPD, 自从 1974 年 Kolb^[75] 采用不易挥发的碳酸铷和二氧化硅烧结成硅酸铷珠, 解决了铷珠寿命短的缺点, 使 NPD 一越成为检测痕量 N、P 化合物的气相色谱仪的常用检测器。

NPD 的结构如图 4.1 所示, NPD 是在氢火焰离子化检测器 (FID) 的喷嘴上方加碱源, 又称铷珠, 工作时碱源被电加热至红热的电离源, 在电离源周围形成冷焰, 含 N、P 的化合物在此发生裂解和激发反应, 形成 N、P 的选择性检测。

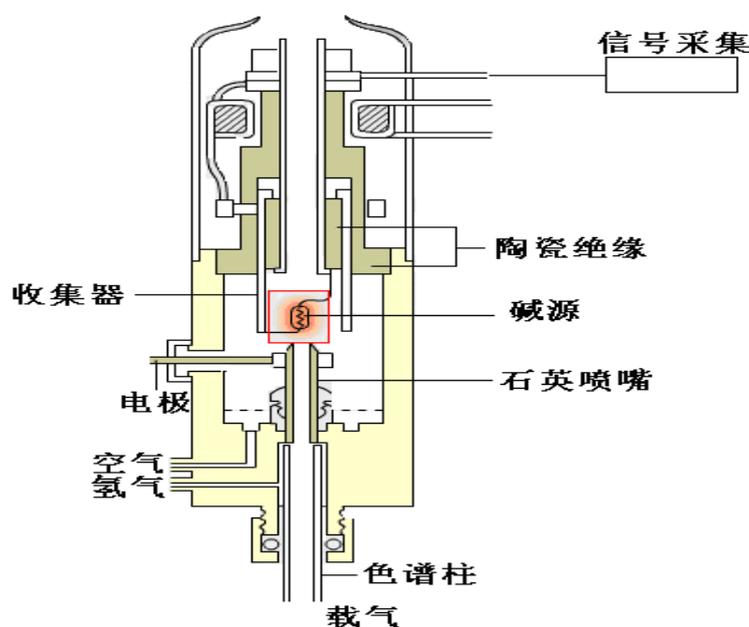


图 4.1. NPD 的结构示意图

几十年来,有机磷杀虫剂的销售额一直居各类农药之首, 在我国,仅有机磷杀虫剂就占有所有使用农药的 70 %以上, 也是导致农药残留超标的主要原因^[3]。氨基甲酸酯和有机氮类农药由于低毒, 残留时间短, 用于防治水稻和小麦的常见病虫害成上涨趋势。有机磷、有机氮和氨基甲酸酯类农药残留分析的报道较多, 在这些研究报告中, 较为常用的仍然是 GC-FPD、GC-NPD, 且一种检测器多针对一类或者两类农药残留, 如:GC-NPD 分析有机磷及有机氮类农药残留^[49], 气相色谱-火焰光度检测器 (GC-FPD) 分析有机磷类农药残留^[43]; 多类农药残留的分离分析方法具有快速、简便、检测对象多的特点而日益受到重视, 是近年来农药残留分析发展的趋势。但仅仅根据气相色谱所提供的保留时间从复杂基质中对多种农药进行

定性分析是非常困难的,也是不可靠的^[51],“假阳性”现象难以避免,GC-MS在一定程度上解决了这一问题。根据上述情况,本文筛选出3类14种农药进行分析,14种农药的性质见表6.1。

4.2 实验部分

4.2.1 仪器与试剂

美国热电菲尼根 Trace GC 气相色谱仪,北京东方精华苑科技有限公司(空气发生器 SGK-2LB 和氢气发生器 SGH-300),分析柱为 ZB-1701 (30m×0.32mm×0.25μm)。

BUCHI R II 型旋转蒸发仪,北京医疗仪器修理厂离心机,天津奥特赛恩斯 AS3120 型超声波清洗器,梅特勒-托利多 AB104-S 分析天平。

农药标样(甲胺磷、久效磷、毒死蜱、乐果、水胺硫磷、仲丁威、异丙威、克百威、三唑酮、噻嗪酮、烯唑醇)国家农药质量监督检验中心;对硫磷、甲基对硫磷、三唑磷(Augsbury Germany)

硅镁吸附剂 60-100 目(上海化学试剂厂),650℃灼烧 4 小时,用前 140℃烘 3 个小时,备用。无水硫酸钠(分析纯)650℃灼烧 4 小时,干燥,备用。丙酮(分析纯 重蒸)、乙腈(分析纯 重蒸)、二氯甲烷(分析纯 重蒸)、乙酸乙酯(分析纯 重蒸)。

4.2.2 溶液的配制

分别准确称取 50mg (精确到 0.1mg)的农药标准品,至 10mL 容量瓶中,用丙酮定容,得到 5mg/mL 农药单标标准溶液。

分别移取 0.2mL 的单标溶液,到 10mL 容量瓶中,得到 0.1mg/mL 的 GC-MS 标准溶液。根据 NPD 对各种农药的响应,决定其混合标准溶液的浓度,甲胺磷(0.02mg/mL)、久效磷(0.02mg/mL)、三唑磷(0.02mg/mL)、对硫磷(0.02mg/mL)、甲基对硫磷(0.02mg/mL)、水胺硫磷(0.02mg/mL)、毒死蜱(0.02mg/mL)、噻嗪酮(0.02mg/mL)、烯唑醇(0.02mg/mL)、三唑酮(0.02mg/mL)、仲丁威(0.02 mg/mL)、异丙威(0.02 mg/mL)、克百威(0.02 mg/mL)、乐果(0.01 mg/mL)。

分别准确取 5μL、10μL、20μL、50μL、100μL 单标标准溶液到 5mL 容量瓶中,得到 5μg/mL、10μg/mL、20μg/mL、50μg/mL、100μg/mL 的不同浓度的混合标准溶液。

4.2.3 样品前处理

称取过 40 目的样品 5.0g(精确到 0.01g)于 100mL 玻璃离心管中,加入 3.0g 无水硫酸钠,40.0mL 丙酮,超声提取 20min,离心 5min(3000r/min),将上层清液转入 250mL 的圆底烧瓶中,再次向离心管中加入 40.0mL 丙酮,超声提取 20min,离心 5min(3000r/min),两次的提取液合并于 250mL 圆底烧瓶中,旋转蒸发仪(40℃)浓缩近干,用正己烷:乙酸乙酯=1:1(V/V)定容至 5mL,过柱,层析柱(40 cm × 2.0cm)中依次装入 2cm 高无水硫酸钠,5.0g 硅镁吸附剂,2cm 高无水硫酸钠,用 40mL 正己烷:乙酸乙酯=4:1(V/V),40mL 正己烷:乙酸乙酯=1:1(V/V),40mL 正己烷:乙酸乙酯=1:4(V/V)依次淋洗,将滤液在旋转蒸发仪(40℃)浓缩浓缩近干,用丙酮定容至 1mL,用 0.45μm 的过滤器过滤,待测。

4.2.4 色谱条件

GC-NPD 色谱条件:

分析柱: ZB-1701(30m × 0.32mm × 0.25μm),载气: He 气,柱流量: 2.20mL/min,分流进样,分流比: 5:1,气化室温度: 240℃;柱温: 70℃(0.1min)---39℃/min---210℃(1.0min)---5℃/min---260℃(3.0min);检测器温度: 290℃,保持恒流状态,电流: 2.0pA,尾吹气(He): 30 mL/min,氢气: 3.5 mL/min,空气: 145 mL/min;进样量: 1μL。

GC-MS 条件:

GC 条件: 分析柱: ZB-1701(30m × 0.32mm × 0.25μm),载气 He,气化室温度: 240℃,柱流量: 2.20mL/min,分流进样,分流比: 5:1,吹扫流量: 3.0mL/min;柱温: 70℃(0.1min)---39℃/min---210℃(1.0min)---5℃/min---260℃(3.0 min);进样量为 1μL。

MS 条件: 电离方式: EI,电离电压: 70ev,离子源温度为: 200℃,接口温度为: 230℃,检测器增益方式,绝对值: 1.0KV,扫描间隔: 0.2Sec,离子检测模式: 选择离子扫描(SIM),整个分析过程分为 9 个时间段,每个时间段扫描 1~3 个农药,每种农药选择一个定量离子、两个参考离子,14 种农药的分组情况、保留时间、定量离子、参考离子及对应得相对强度见表 4.1。

4.2.5 色谱条件的优化

4.2.5.1 萃取剂的选择

对提取溶液的选择，实验选择常用的提取溶剂：丙酮、乙腈、乙酸乙酯、二氯甲烷，通过加入标准溶液到空白样品中，比较其添加回收率，选择适合提取 14 种农药萃取剂，结果表明，二氯甲烷和乙酸乙酯差不多，但是都劣于丙酮，最后选定丙酮作为提取溶剂，见图 4.2。图中仅是部分具有代表性的农药在 GC-NPD 色谱条件下的添加回收率。

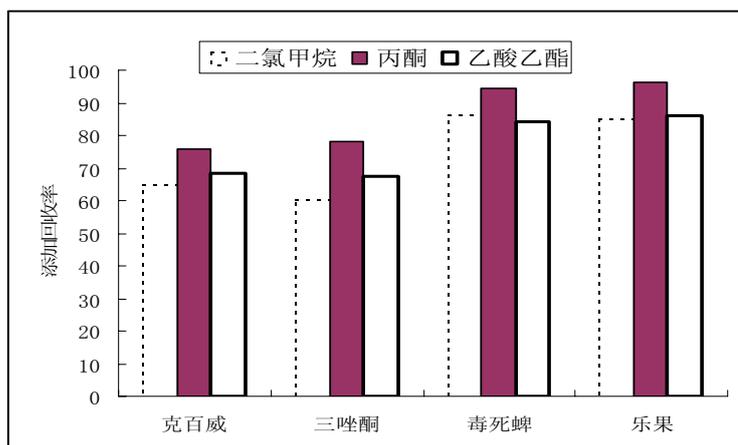


图 4.2 提取溶剂的选择

Fig.4.2-The choose of extract solvent

4.2.5.2 萃取时间的选择

实验中分别选择 10min、15min、20min、25min、30min 作为萃取时间，通过加入标准溶液到空白样品中，比较其农药的回收率来确定萃取时间，见图 4.3。图中仅是部分具有代表性的农药标样的回收率随萃取时间的变化情况，从图中可以看出 20min 后，添加回收率随提取时间的变化很小，实验选择 20min 作为提取时间。

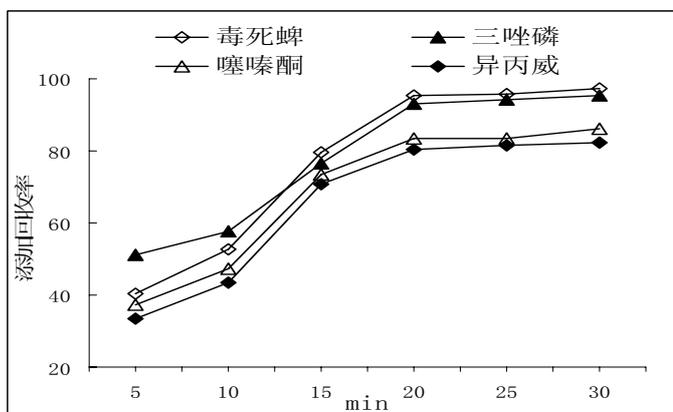


图 4.3 萃取时间对添加回收率的影响

Fig.4.3-Effect of extract time on recovery

4.2.5.3 样品净化方式的选择

由于粮谷的基质较为复杂，不通过净化，对离子源和色谱柱的污染较为严重，也不利于定性、定量分析，实验选用较为普通的国产硅镁吸附剂柱层析的方法，虽然增加了有机溶剂的使用量，但是由于采用的是旋转蒸发器浓缩，定期回收，也能节约使用成本，并能有效地净化杂质，能满足试验的要求。

4.2.5.4 柱子的选择

由于测定的对象分别属于有机磷、氨基甲酸酯、有机氮等不同结构的化合物，它们在分子量、极性、结构等方面有较大差异，实验中，尝试了用 ZB-5, ZB-1701, ZB-50, 发现在中极性柱 ZB-1701 上 14 种农药能够完全分离，保留时间较短，峰容量是三种柱子中最好的。

4.2.5.5 进样口温度的选择

在实验中选择了容易分解的仲丁威、异丙威和沸点较高的三唑磷三种农药，尝试了 220℃, 240℃, 260℃, 280℃ 为进样口温度。研究不同进样口温度对三种农药峰高变化情况。根据实验发现，240℃ 以后三唑磷的峰高趋于稳定，这主要是因为 240℃ 之前，进样口温度相对较低，使得沸点高的三唑磷气化的时间变长，使得样品在柱内分布加宽，峰高就要下降，当进样口温度升至足够高时样品可以瞬间气化，峰高就比较稳定。但在 280℃ 时发现仲丁威、异丙威的峰面积急剧下降，可能是在 280℃ 时仲丁威、异丙威这两种农药发生热分解，导致了仲丁威、异丙威的峰面积下降。所以，最终选定进样口温度为 240℃。

4.2.5.6 氢气流量的选择

实验采用氮磷型操作，喷嘴不接地，空气和氢气流量较小，空气流量一般小于 150mL/min, 空气流速太大，电离源表面温度降低，输出信号相应降低，而氢气流量增加，可以增加电离源表面的温度，使响应迅速增加，但必须小于喷嘴点火流速，否则 NPD 就变成 FID，失去了对 N、P 的选择性^[76]。

实验中比较了氢气流量为 1.0mL/min, 1.5mL/min, 2.0mL/min, 2.5mL/min, 3.0mL/min, 3.5mL/min, 4.0mL/min 标样的色谱图，当氢气流量为 3.5mL/min 后，所有分析的农药的峰面积不再下降，最终选择 3.5mL/min 作为氢气的流量。

4.2.5.7 GC-EI-MS-SIM 的特征离子的选择

用 3.2.6 同样的方法确定待测定的农药的定量离子和参考离子，14 种测定农药的保留时间、分组设定时间、定量离子、参考离子及相对强度见表 4.1。

表 4.1 农药的定量离子和参考离子
Tab.4.1-The quantitative ions and reference ions of pesticides standard

名称	保留时间	分组设定时间	定量离子	参考离子 I	参考离子 II
甲胺磷	3.84	3.32-4.28	94(100)	141(37)	64(24)
异丙威	4.77	4.28-6.27	121(100)	136(40)	91(13)
仲丁威	5.10	4.28-6.27	121(100)	150(27)	91(11)
克百威	6.10	4.28-6.27	164(100)	149(57)	122(20)
久效磷	6.61	6.27-6.86	127(100)	67(34)	97(26)
乐果	6.83	6.27-6.86	87(100)	93(51)	125(34)
毒死蜱	7.50	6.86-8.02	97(100)	199(66)	314(62)
甲基对硫磷	7.70	6.86-8.02	109(100)	125(63)	263(61)
三唑酮	8.35	8.02-8.66	57(100)	208(26)	85(27)
对硫磷	8.50	8.02-8.66	109(100)	97(81)	291(72)
水胺硫磷	8.90	8.66-9.46	136(100)	121(77)	110(45)
噻嗪酮	9.94	9.46-10.81	105(100)	172(37)	140(11)
烯唑醇	11.79	10.81-11.95	268(100)	270(66)	232(20)
三唑磷	12.99	11.95-13.52	161(100)	77(63)	97(49)

4.3 结果及讨论

4.3.1 标样谱图

用优化的色谱条件分别分析 4.2.2 中 GC-NPD、GC-EI-MS-SIM 的混合标准溶液，GC-NPD 的分析方法的色谱图见图 4.4，GC-EI-MS-SIM 分析方法的 MC 图见图 4.5。

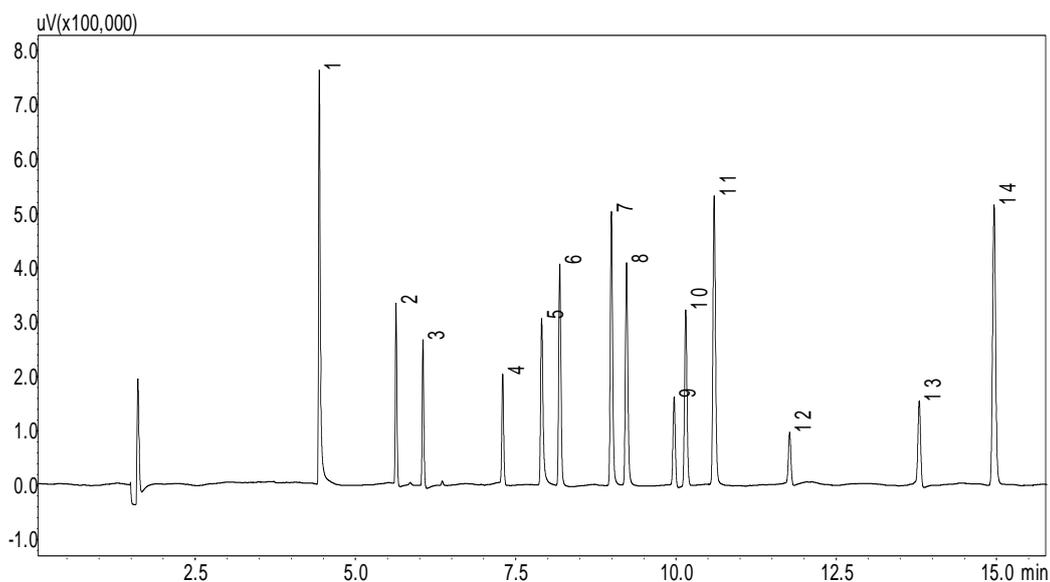


图 4.4 农药标样 GC-NPD 色谱图
Fig.4.4 -The chromatogram of pesticides sample by GC-NPD

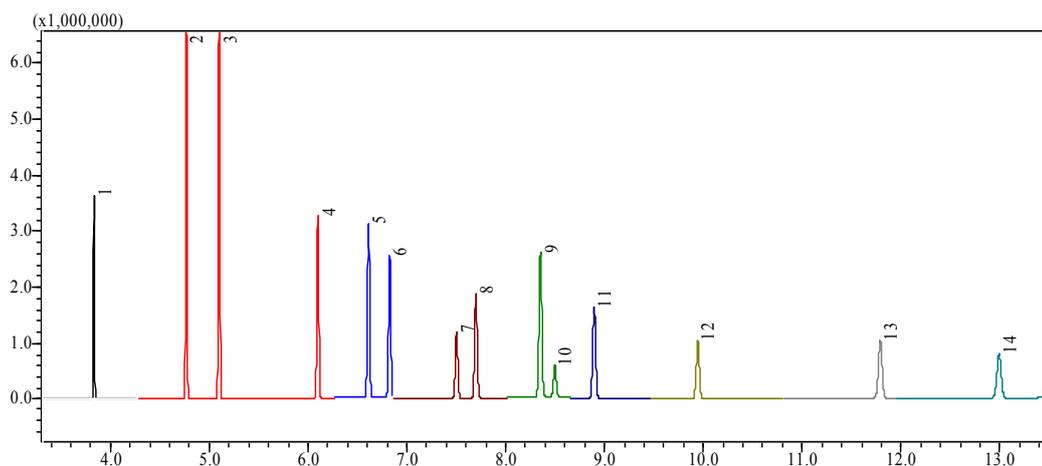


图 4.5 农药标样 GC-EI-MS-SIM 的 MC 图
Fig.4.5-The MC of pesticides sample by GC-EI-MS-SIM

GC-NPD 条件:

分析柱: ZB-1701 (30m×0.32mm×0.25μm), 载气 He, 柱流量: 2.20mL/min, 分流进样, 分流比: 5:1, 气化室温度: 240℃; 柱温: 70℃ (0.1min)---39℃/min---210℃ (1.0min) ---5℃/min---260℃ (3.0min); 检测器温度: 290℃, 保持恒流状态, 电流: 2.0pA, 尾吹气(He): 30 mL/min, 氢气: 3.5 mL/min, 空气: 145 mL/min; 进样量: 1μL。

GC-MS 条件:

GC 条件: 分析柱: ZB-1701 (30m×0.32mm×0.25μm), 载气 He, 气化室温度: 240℃, 柱流量: 2.20mL/min, 分流进样, 分流比: 5: 1, 吹扫流量: 3.0mL/min; 柱温: 70℃ (0.1min)---39℃/min---210℃ (1.0min) ---5℃/min---260℃ (3.0min); 进样量: 1μL。

MS 条件: 电离方式: EI, 电离电压: 70ev, 离子源温度: 200℃, 接口温度为: 230℃, 离子检测模式: 选择离子扫描 (SIM), 检测器增益方式: 绝对值 1.00KV, 扫描间隔: 0.2Sec。

色谱峰: 1、甲胺磷, 2、异丙威, 3、仲丁威, 4、克百威, 5、久效磷, 6、乐果, 7、毒死蜱, 8、甲基对硫磷, 9、三唑酮, 10、对硫磷, 11、水胺硫磷、12、噻嗪酮, 13、烯啶醇, 14、三唑磷

4.3.2 线性范围、标准曲线方程与相关系数

将 4.2.2 中的不同浓度的混合标准溶液, 按 4.2.4 的色谱条件, 采集 GC-NPD 和 GC-EI-MS-SIM 的谱图, 在 5μg/mL-100μg/mL 线性范围内, 以外标法作为定量方法, 标准曲线方程及相关系数见表 4.2。NPD 分析方法的部分农药的标准曲线见图 4.6 中图 I, MS 分析方法的部分农药的标准曲线见图 4.6 中图 II, 标准曲线方程 I 中 Y 为峰面积, X 为农药的浓度 (μg/mL); 标准曲线方程 II 中 Y 为质量色谱图中定量离子的峰面积, X 为农药的浓度 (μg/mL)。

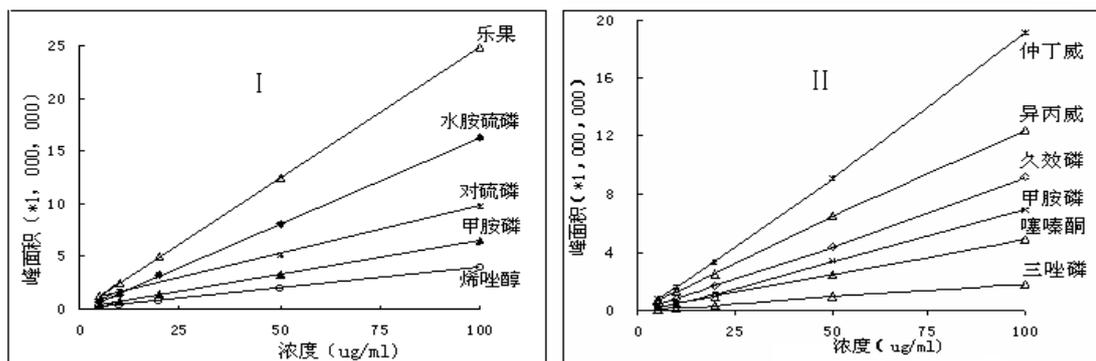


图 4.6 部分农药的标准曲线 (I (NPD) II (MS))

Fig.4.6- The standard curve of some pesticides[I (NPD) II (MS)]

表 4.2 农药标准曲线方程和相关系数

Tab.4.2-The regression equation and correlation coefficient of pesticides

名称	标准曲线方程 (NPD)	R ² (NPD)	标准曲线方程 (MS)	R ² (MS)
甲胺磷	Y= 64408X+ 91337	0.9998	y = 70715x - 177126	0.9990
毒死蜱	Y= 95509X+ 297105	0.9991	y = 15926x + 2512.3	0.9991
乐果	Y=146567X+ 1000000	0.9992	y = 67811x + 27667	0.9999
久效磷	Y= 50769X + 47240	0.9992	y = 92355x - 142829	0.9995
三唑磷	Y= 102780X + 183547	0.9992	y = 17996x + 2839	0.9991
对硫磷	Y = 95055X + 368017	0.9996	y = 55009x - 32739	0.9992
甲基对硫磷	Y= 101322X + 383843	0.9990	y = 52994x - 42140	0.9997
仲丁威	Y=15060X	0.9993	y = 193527x - 367469	0.9994
异丙威	Y = 16580X- 26534	0.9992	y = 123755x + 105665	0.9993
克百威	Y= 15084X - 15818	0.9996	y = 47236x - 80385	0.9978
水胺硫磷	Y = 71732X + 2E+06	0.9993	y = 35617x + 2994.5	0.9994
噻嗪酮	Y= 63821X - 61223	0.9993	y = 48278x + 14631	0.9998
烯唑醇	Y = 39079X - 21934	0.9995	y = 48031x - 17499	0.9998
三唑酮	Y = 34699X + 20274	0.9995	y = 103783x + 38476	0.9996

从表 4.2 可以看出，两种分析方法在相同的线性范围 (5μg/mL-100μg/mL) 内，GC-NPD 的线性相关系数在 0.9978-0.9998 之间，GC-EI-MS-SIM 的线性相关系数在 0.9990-0.9999 之间，峰面积与浓度相关性较好。

4.3.3 前处理方法的净化效果

实验中先在 NPD 检测器上摸索出前处理方法, 能对目标组分准确性、定量时, 将处理好的试样, 在 GC-EI-MS-SIM 色谱条件下分析, 优化前处理方法, 使前处理方法能满足两种检测器的要求, 面粉中添加 10mg/kg 的谱图见图 4.7-4.8, 图 4.7 用 NPD 作为检测器, 图 4.8 用 MS 作为检测器。

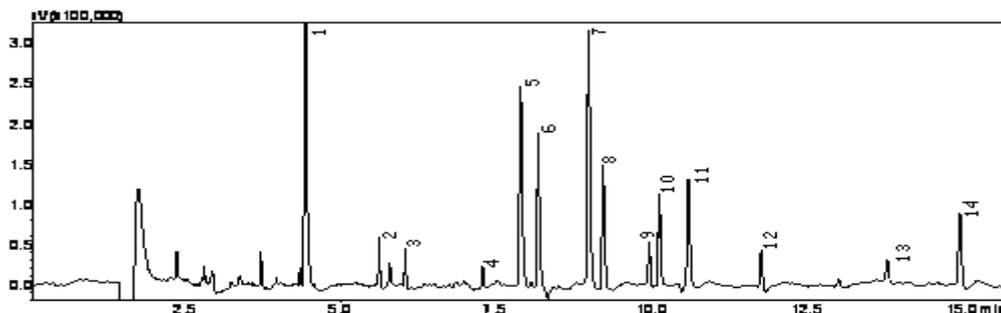


图4.7 面粉添加10mg/kg的GC-NPD色谱图

Fig.4.7-The chromatogram of blank flour extract spiked with 10mg/kg standards by GC-NPD

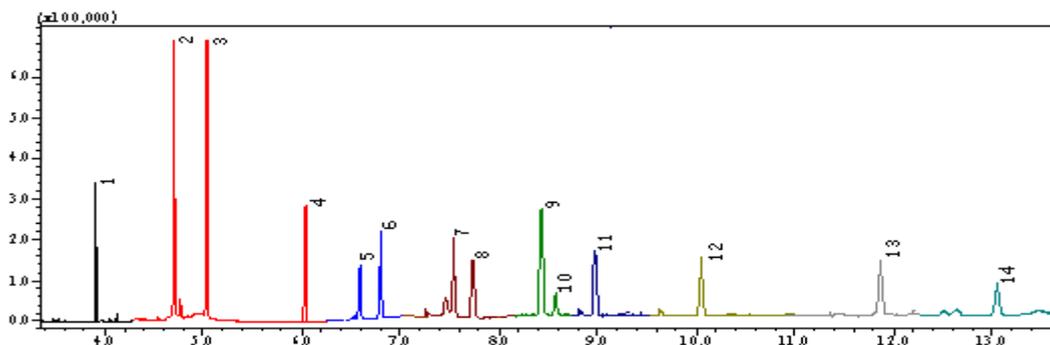


图4.8 面粉添加10mg/kg的GC-EI-MS-SIM的MC图

Fig.4.8-The MC of blank flour extract spiked with 10mg/kg standards by GC-EI-MS-SIM

GC-NPD 条件:

分析柱: ZB-1701 (30m×0.32mm×0.25μm), 载气 He, 柱流量: 2.20mL/min, 分流进样, 分流比: 5:1, 气化室温度: 240℃; 柱温: 70℃ (0.1min)---39℃/min---210℃ (1.0min) ---5℃/min---260℃ (3.0min); 检测器温度: 290℃, 保持恒流状态, 电流: 2.0pA, 尾吹气(He): 30 mL/min, 氢气: 3.5 mL/min, 空气: 145 mL/min; 进样量: 1μL。

GC-MS 条件:

GC 条件: 分析柱: ZB-1701 (30m×0.32mm×0.25μm), 载气 He, 气化室温度: 240℃, 柱流量: 2.20mL/min, 分流进样, 分流比: 5:1, 吹扫流量: 3.0mL/min; 柱温: 70℃ (0.1min)---39℃/min---210℃ (1.0min) ---5℃/min---260℃ (3.0min); 进样量: 1μL。

MS 条件: 电离方式: EI, 电离电压: 70ev, 离子源温度: 200℃, 接口温度为: 230℃, 离子检测模式: 选择离子扫描 (SIM), 检测器增益方式: 绝对值 1.00KV, 扫描间隔: 0.2Sec。

色谱峰：1、甲胺磷，2、异丙威，3、仲丁威，4、克百威，5、久效磷，6、乐果，7、毒死蜱，8、甲基对硫磷，9、三唑酮，10、对硫磷，11、水胺硫磷、12、噻嗪酮，13、烯唑醇，14、三唑磷

从图4.7-4.8可以看出，经优化的前处理方法排除了基质的干扰，能对所有的目标物进行准确定性、定量，能满足两种检测器的要求；也证实了特征离子的选择方法是有效的、正确的。

4.3.4 方法的添加回收率与精密度

实验选用了具有代表性的云南本地米、面粉两种粮谷样品，对 14 种农药在 4mg/kg, 10 mg/kg 两个浓度水平进行添加回收率实验，每个浓度做 5 次重复，每批样品做一个空白，两种分析方法的添加回收率及精密度见表 4.3。

表 4.3 农药的添加回收率
Tab.4.3-The recovery of of pesticides

名称	添加浓度 mg/kg	大米回收率		大米精密度		面粉回收率		面粉精密度	
		NPD	MS	NPD	MS	NPD	MS	NPD	MS
甲胺磷	4	105.8	106.3	7.64	5.26	104.6	105.3	3.26	3.13
	10	98.3	80.2	5.89	4.69	87.3	94.2	5.23	1.12
异丙威	4	71.4	87.5	6.38	6.23	85.9	78.4	4.59	3.16
	10	73.6	82.7	6.79	8.26	88.5	75.2	6.98	2.54
仲丁威	4	72.5	75.6	6.34	5.25	80.2	79.6	5.86	4.59
	10	74.9	73.0	7.98	5.86	83.4	82.5	7.48	5.42
克百威	4	87.5	88.7	9.81	4.23	89.2	86.4	8.56	4.15
	10	89.2	88.5	8.53	3.56	87.1	79.1	7.64	6.42
久效磷	4	103.2	109.3	7.46	4.44	94.1	98.7	6.35	5.13
	10	106.4	88.7	9.85	4.25	100.9	109.4	4.32	3.15
乐果	4	117.2	96.4	5.63	3.06	104.4	108.7	8.97	2.89
	10	103.4	87.5	8.43	1.39	96.6	87.6	9.73	4.68
毒死蜱	4	105.7	102.4	6.94	3.86	100.1	100.9	8.42	3.45
	10	98.3	87.6	6.39	4.74	97.7	90.1	8.59	2.83
甲基对硫磷	4	100.3	98.3	6.58	5.60	100.4	94.3	7.41	0.97
	10	97.4	103.9	9.87	4.59	93.9	111.2	7.63	3.46
三唑酮	4	88.4	88.7	5.23	1.60	85.2	87.6	6.98	4.29
	10	86.3	85.9	11.56	2.94	86.3	89.5	7.61	3.81
对硫磷	4	96.5	87.9	8.74	4.98	96.9	106.1	10.8	2.69
	10	97.6	98.6	4.63	3.36	104.1	91.6	8.63	1.18
水胺硫磷	4	101.9	94.6	9.64	2.27	102.9	100.7	4.58	2.68
	10	104.5	92.0	4.62	1.44	91.5	89.4	8.64	1.97
噻嗪酮	4	84.6	76.4	10.63	3.26	80.9	83.6	10.2	3.67
	10	87.2	71.7	13.43	1.47	87.6	86.4	11.6	2.59
烯唑醇	4	82.6	90.3	8.94	4.55	80.6	78.9	11.5	3.64
	10	86.5	92.4	7.65	3.87	80.4	80.5	9.8	2.87
三唑磷	4	100.9	107.4	8.32	6.33	104.1	98.4	9.87	6.87
	10	97.8	79.1	7.48	9.52	101.8	106.9	10.2	6.42

实验结果表明, 大米和面粉中, 两种检测器分析经同样的前处理方法处理的试样, 有机磷类农药的添加回收率都显著高于有机氮及氨基甲酸酯类农药; MS 的相对标准偏差在 0.97%~9.52%之间, 添加回收率: 77.1%~111.2%, NPD 的相对标准偏差在 3.26%~13.43%之间, 添加回收率: 71.4%~117.2%, MS 的精密度显著高于 NPD。

4.3.5 方法的最低检出限

用 3.3.3 中的方法, 用公式 (2) 计算方法的最低检出限, 按试样质量: 5.0g, 定容体积: 1.0mL, 进样量: 1.0 μ L, 14 种农药的最低检出限见表 4.4, 并将 14 种农药在 GB/T2763-2005 和欧盟中的最大残留限量列入表 4.4 中。

表 4.4 方法的最低检出限及食品中的最大残留限量
Tab.4.4-The limit of detection of the method and the maximum residue limits in foods

农药名称	方法的最低检出限		GB/T2763-2005	欧盟 (mg/kg)
	NPD (mg/kg)	MS (mg/kg)	(mg/kg)	
甲胺磷	0.00024	0.00087	0.1	0.01 (大米)
毒死蜱	0.00045	0.00053	0.1	0.05 (面粉)
乐果	0.00018	0.00036	0.05	0.02 (大米)
久效磷	0.00032	0.00069	0.02	0.1 (茶)
三唑磷	0.00058	0.00159	0.05	0.02 (大米)
对硫磷	0.00043	0.00108	0.1	0.05 (大米)
甲基对硫磷	0.00067	0.00094	0.1	0.02 (大米)
仲丁威	0.00125	0.00026	0.5	-----
异丙威	0.00164	0.00019	0.2	-----
克百威	0.00187	0.00039	0.2	0.1 (大米)
水胺硫磷	0.00072	0.00094	0.1	0.02 (大米)
噻嗪酮	0.00126	0.00269	0.3	----
烯唑醇	0.00198	0.00105	0.05	----
三唑酮	0.00193	0.00367	0.5	0.1 (大米)

4.3.6 粮谷试样分析结果

实验用两种分析方法（GC-NPD、GC-EI-MS-SIM）分析了在市场上随机购买的云南本地米、泰国进口米、面粉、稻谷等样品，分析结果见表 4.5。

表 4.5 粮谷中农药残留量
Tab.4.5-The contents of pesticides residue in grain

农药名称	NPD 定性结果		MS 定性结果		NPD 定量 (μg/kg)		MS 定量 (μg/kg)	
	稻谷	云南米	稻谷	云南米	稻谷	云南米	稻谷	云南米
甲胺磷	+	N. D	+	N. D	4.15	/	4.52	/
久效磷	+	N. D	+	N. D	4.97	/	4.76	/
噻嗪酮	N. D	+	N. D	N. D	/	10.2	/	/

注：“+”表示阳性，“/”表示无此内容，“N. D”表示未检出

从表 4.5 中得出，云南米中检出的噻嗪酮出现“假阳性”，GC-NPD 分析结果见图 4.9，GC-EI-MS-SIM 分析结果见图 4.10。

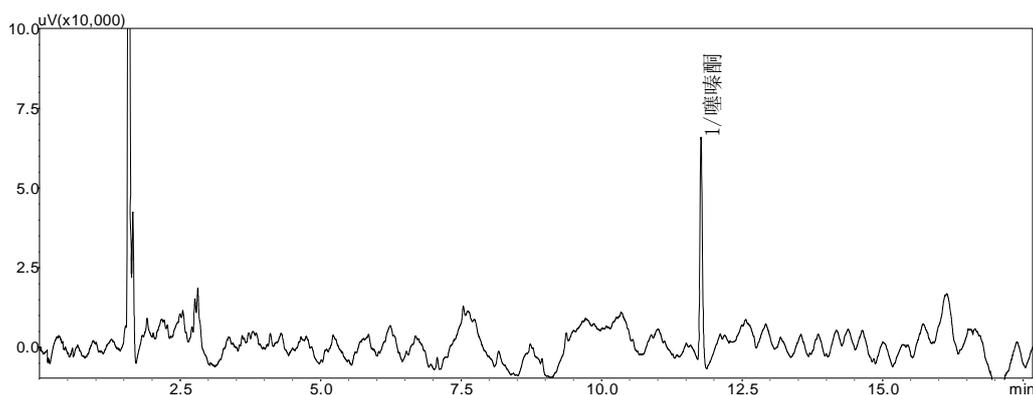


图 4.9 GC-NPD 分析云南本地米中农药残留
Fig.4.9-The pesticides residue in yunnan rice with GC-NPD

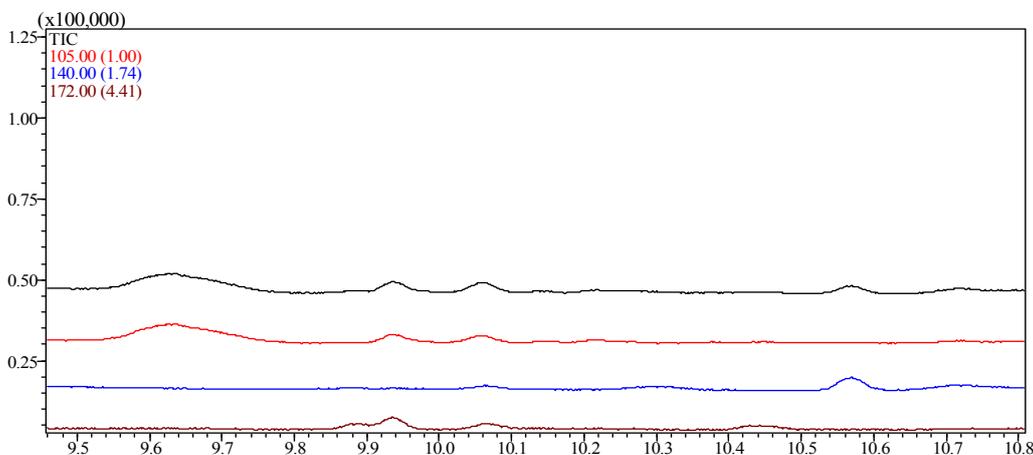


图 4.10 GC-EI-MS-SIM 分析云南本地米中农药残留
Fig.4.10-The pesticides residue in yunnan rice with GC-EI-MS-SIM

GC-NPD 条件:

分析柱: ZB-1701 (30m×0.32mm×0.25 μ m), 载气 He, 柱流量: 2.20mL/min, 分流进样, 分流比: 5:1, 气化室温度: 240 $^{\circ}$ C; 柱温: 70 $^{\circ}$ C (0.1min)---39 $^{\circ}$ C/min---210 $^{\circ}$ C (1.0min)---5 $^{\circ}$ C/min---260 $^{\circ}$ C (3.0min); 检测器温度: 290 $^{\circ}$ C, 保持恒流状态, 电流: 2.0pA, 尾吹气(He): 30 mL/min, 氢气: 3.5 mL/min, 空气: 145 mL/min; 进样量: 1 μ L。

GC-MS 条件:

GC 条件: 分析柱: ZB-1701 (30m×0.32mm×0.25 μ m), 载气 He, 气化室温度: 240 $^{\circ}$ C, 柱流量: 2.20mL/min, 分流进样, 分流比: 5:1, 吹扫流量: 3.0mL/min; 柱温: 70 $^{\circ}$ C (0.1min)---39 $^{\circ}$ C/min---210 $^{\circ}$ C (1.0min)---5 $^{\circ}$ C/min---260 $^{\circ}$ C (3.0min); 进样量: 1 μ L。

MS 条件: 电离方式: EI, 电离电压: 70eV, 离子源温度: 200 $^{\circ}$ C, 接口温度为: 230 $^{\circ}$ C, 离子检测模式: 选择离子扫描 (SIM), 检测器增益方式: 绝对值 1.00KV, 扫描间隔: 0.2Sec。

峰: 1、噻嗪酮

在图 4.10 中, 噻嗪酮的扫描时间段 (9.46-10.81min), 未见噻嗪酮的特征离子 (105、140、172) 的质量色谱图, 表明云南本地米中没有噻嗪酮残留。仅根据气相色谱所提供的保留时间从复杂基质中对目标化合物进行定性分析是非常困难的, 结果也是不可靠。

实验再次将呈“假阳性”的试样, 通过 GC-EI-MS-SCAN 分析, 残留组分的 TIC 图及质谱图见图 4.11。

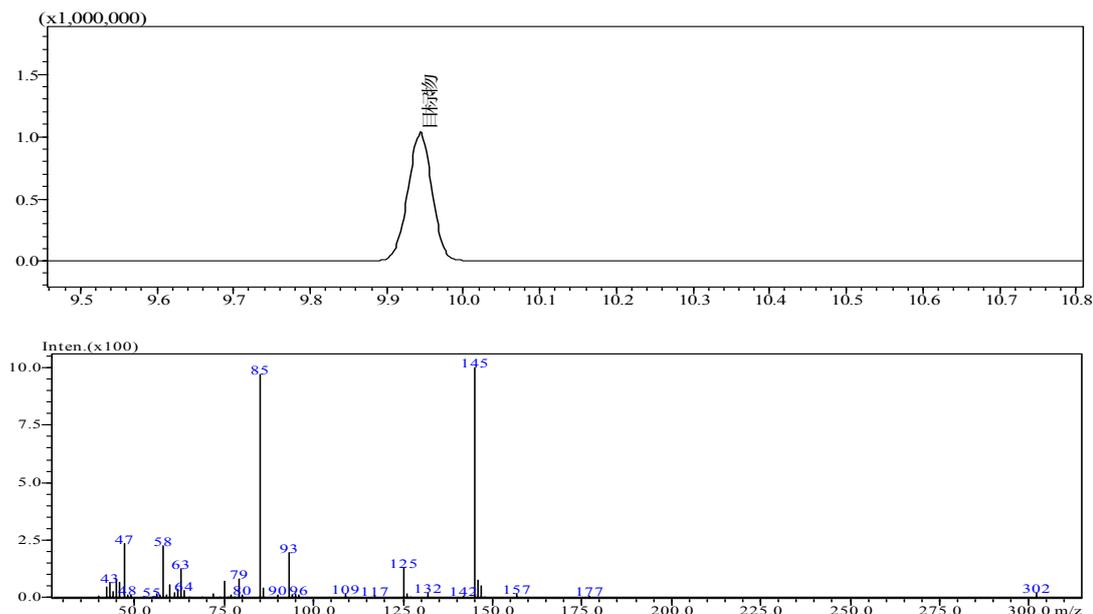


图 4.11 云南米 GC-EI-MS-SCAN 的 TIC 图及目标化合物的质谱图

Fig.4.11-The TIC and mass spectrum of compound in Yunnan rice by GC-EI-MS-SCAN

GC-MS 条件:

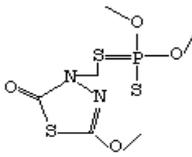
GC 条件: 分析柱: ZB-1701 (30m×0.32mm×0.25μm), 载气 He, 气化室温度: 240℃, 柱流量: 2.20mL/min, 分流进样, 分流比: 5:1, 吹扫流量: 3.0mL/min; 柱温: 70℃ (0.1min)---39℃/min---210℃ (1.0min) ---5℃/min---260℃ (3.0min); 进样量: 1μl。

MS 条件: 电离方式: EI, 电离电压: 70ev, 离子源温度: 200℃, 接口温度为: 230℃, 离子检测模式: 选择离子扫描 (SCAN), 扫描范围: 45-450, 检测器增益方式: 绝对值 1.00KV, 扫描间隔: 0.2Sec。

峰: 目标物

将图 4.11 中 TIC 图, 扣除背景干扰, 利用谱库 (NTST05S) 检索, 相似度: 96, 结果见表 4.6。

表 4.6 杂质的性质
Tab. 4.6-The character of impurity

名称	分子式	分子量	CAS	结构	系统命名
目标物 杀扑磷	$C_6H_{11}N_2O_4PS_3$	302	950-37-8		S-2, 3-二氢-5-甲氧基-2-氧代-1,3,4-硫二氮茂-3-甲基-0,0-二甲基二硫代磷酸酯

实验中用 0.1mg/mL 的杀扑磷标准溶液, 按 4.2.4 的色谱条件, 采用 GC-EI-MS-SCAN 分析, 杀扑磷的出峰时间与噻嗪酮完全相同 (9.94min), 并将杀扑磷的标准溶液质谱图的质量表与图 4.11 中质谱图的质量表相比较, 差别小于 5%。进一步肯定在云南本地米中检测到的农药是: 杀扑磷, 而不是噻嗪酮。

4.4 结论

本实验采用超声波丙酮提取, 硅镁吸附剂柱层析法净化, 两种检测器 (NPD、MS) 分析了粮谷试样中 3 类 14 种农药残留, 两种分析方法在同样的线性范围 5μg/mL-100μg/mL, 同样的前处理方法下, GC-NPD 和 GC-EI-MS-SIM 分析 3 类农药残留的各项技术指标列入表 4.7, 结果见表 4.7。

表 4.7 两种方法的总结
Tab.4.7-The comparison of two methods

对象	方法	GC-EI-MS-SIM	GC-NPD
	分析农药	多类农药	含 N、P 原子农药

对前处理要求	高	较高
最低检出限 $\mu\text{g}/\text{kg}$	0.87-3.67	0.24-1.98
定性准确度	准确	有一定局限
添加回收率	77.1%-111.2%	71.4%-117.2%
相对标准偏差	0.97%~9.52%	3.26%-13.43%
线性相关系数	0.9990-0.9998	0.9978-0.9998
操作难度程度	难	容易
操作及维护成本	贵	便宜

对于农药残留分析，属于痕量分析，甚至是超痕量分析，方法的添加回收率一般要求在70%~120%之间，相对标准偏差小于20%，线性相关系数大于0.99就能满足要求；从表4.7可知，两种分析方法的添加回收率、相对标准偏差、线性相关系数都能满足要求，且MS的精密度与定性准确度明显优于NPD，两种方法的最低检出限处在同一个数量级，实验中可用GC-NPD摸索色谱条件和前处理方法，GC-EI-MS-SIM定性确证。

第五章 各种农药残留分析方法的特点

本章主要对本课题所研究过的三种分离分析方法的特点进行比较和讨论, 分析各种方法的优缺点, 从而对粮谷中农药残留的分离分析方法提出一些切合实际的建议。

5.1 GC-NCI-MS-SIM分析农药残留的特点

1、GC-NCI-MS-SIM只局限于含电负性原子、且适于用气相色谱分析的目标物的残留分析, 负化学源对电负性原子具有较高灵敏度, 即负化学源对电负性目标物有选择性。

2、抗干扰能力较强、对前处理过程要求不高。从图5.1(粮谷试样经提取未净化时, GC-NCI-MS-SIM采集得到的质量色谱图)得知, 试样提取后不经过硅镁吸附剂净化, 也能满足分析要求, 证实了GC-NCI-MS-SIM对前处理要求不高, 抗干扰能力强。

3、较高的灵敏度、较低的最低检出限。NCI主要将进入离子源的含电负性原子的气化分子断裂成碎片离子或者分子离子, 且采用选择离子扫描方式, 分时间段扫描, 排除了试样中杂质的干扰, 提高了信噪比, 方法的最低检出限在0.01~0.18 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 之间, 能克服发达国家针对这类农药制定的各种贸易壁垒。

4、定性准确。采用保留时间, 定量离子、参考离子及其相对丰度比定性, 保证定性准确度; 对部分被杂质掩盖的目标组分也能进行定性、定量分析, 从一定程度上也降低了方法对前处理过程的要求。

5、14种农药的方法平均添加回收率在75.2%-109.7%之间, 相对标准偏差: 0.67%-9.87%, 线性相关系数都在0.9990以上, 均能满足农药残留分析的要求。

6、NCI 电离方式不具有谱库, 必须在具备标准品的情况下, 自己建立谱库, 对未知化合物定性较难, 运行成本相比起气相色谱要高一些。

采用 GC-NCI-MS-SIM 分析粮谷中痕量甚至超痕量电负性目标物, 方法在最低检出限、选择性和抗干扰能力等方面均具有较强优势, 特别适合于分析含电负性原子的农药的残留, 是农药残留分析领域发展前景较好的方法。

5.2 GC-EI-MS-SIM分析农药残留的特点

1、适合于多类农药残留。根据目标化合物确定其特征离子, 质谱仪针对目标

物的特征离子分时间段进行扫描，能分析农药及其代谢物残留的数量到几百个。

2、强有力的定性工具。EI源70ev现有的大量标准化化合物谱库，是农药残留中结构确证方面最可靠、最具优势的工具。

3、定性准确。采用保留时间、参考离子及其相对丰度比定性，保证定性准确性；对部分被杂质掩盖的目标组分也能进行定性、定量分析，从一定程度上降低了方法对前处理过程的要求。

4、快速、有效的分离方法。一次分离分析只需13min，能满足快速分离分析的要求。

5、14种农药的方法平均添加回收率在77.1%-111.2%之间，相对标准偏差:0.97%~9.52%，线性相关系数都在0.9990以上，均能满足农药残留分析的要求。

此分析方法具有简便、快速、高效、准确、灵敏度高等优点，操作相比NCI容易一些，是多类农药残留分析必需选择的方法，运行成本相比起气相色谱要高一些。

5.3 GC-NPD分析农药残留的特点

1、分析对象局限于含N、P的农药残留。NPD作为一种气相色谱的专属性检测器，只对含有N、P的有机农药有较好的响应，在一定程度上限制了其一次进样能分析的样品种类和数量。

2、定性不准确。仅根据气相色谱所提供的保留时间从复杂基质中对多种农药进行定性分析是非常困难的，也是不可靠的，“假阳性”现象难以避免。实验中可以采用GC-NPD摸索色谱条件和前处理方法，GC-MS定性确证。

3、对前处理要求较高。若前处理过程中净化不完全，目标农药被杂质掩盖，根本无法识别，对分析结果产生干扰，影响色谱分析的分离度、重现性、准确度等。

4、经济、操作简单。

5、快速、有效的分离方法。一次分离分析只需13min，能满足快速分离分析的要求。

6、14种农药的方法平均添加回收率在71.4%-117.2%之间，相对标准偏差:3.26%~13.43%，线性相关系数都在0.9978以上，均能满足农药残留分析的要求。

NPD作为常见检测器，优化好色谱条件与前处理方法，最低检出限与GC-EI-MS-SIM的最低检出限基本处于同一数量级，但精密度、准确度等方面有一定的局限，对目标化合物定性不准确，不能作为确证方法。

5.4 GC-NCI-MS-SIM与GC-EI-MS-SIM的抗干扰能力的比较

本文在3.1中从理论上详细论述了在分析含电负性原子化合物时，方法GC-NCI-MS-SIM比方法GC-EI-MS-SIM有更好的抗干扰能力，实验中比较了面粉试样经提取未净化时，GC-NCI-MS-SIM和GC-EI-MS-SIM分析面粉的MC图，见图5.1和5.2，图5.1为GC-NCI-MS-SIM分析面粉中添加0.8mg/kg农药标样的MC图，图5.2为GC-EI-MS-SIM分析面粉中添加10mg/kg农药标样的MC图。

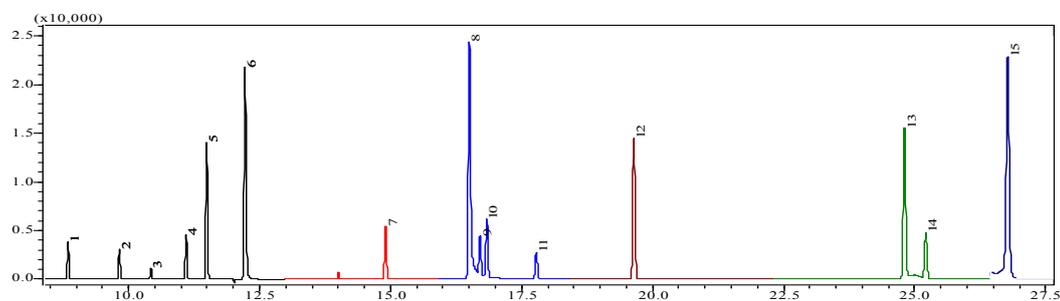


图5.1 GC-NCI-MS-SIM分析面粉中添加0.8mg/kg农药标样的MC图

Fig.5.1-The MC of blank flour extract spiked with 0.8mg/kg standards by GC-NCI-MS-SIM

GC 条件:

色谱柱 ZB-50 (30m×0.25mm×0.25μm), 载气 He, 柱流量: 1.6mL/min, 分流比: 10:1, 进样口: 280℃, 柱温: 100℃ ---15℃/min---200℃ (0.1min)---5℃/min---265℃---25℃/min---300℃ (6.0min), 进样量: 1μL。

MS 条件:

电离方式: NCI, 反应气: CH₄, 离子源温度为: 200℃, 接口温度为: 230℃。离子检测模式: 选择离子扫描 (SIM), 检测器增益方式, 相对值: 0.2KV, 扫描间隔: 0.2Sec。

色谱峰: 1、α-BHC, 2、γ-BHC, 3、β-BHC, 4、δ-BHC, 5、百菌清, 6、三唑酮, 7、P, P-DDE, 8、烯唑醇, 9、P, P-DDD, 10、O, P-DDT, 11、P, P-DDT, 12、甲氰菊酯, 13、氰戊菊酯 I、14、氰戊菊酯 II、15、溴氰菊酯

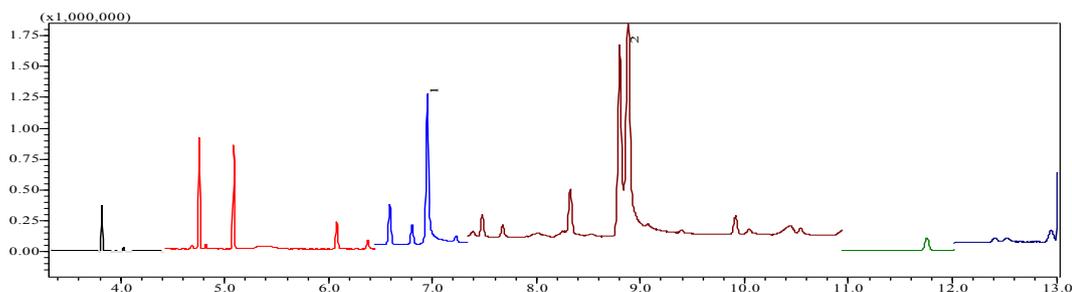


图5.2 GC-EI-MS-SIM分析面粉中添加10mg/kg农药标样的MC图

Fig.5.2-The MC of blank flour extract spiked with 10mg/kg standards by GC-EI-MS-SIM

GC-MS 条件:

GC 条件: 分析柱: ZB-1701 (30m×0.32mm×0.25μm), 载气 He, 气化室温度: 240℃, 柱流量: 2.20mL/min, 分流进样, 分流比: 5:1, 吹扫流量: 3.0mL/min; 柱温: 70℃ (0.1min)---39℃/min---210℃ (1.0min)---5℃/min---260℃ (3.0min); 进样量: 1μL。

MS 条件: 电离方式: EI, 电离电压: 70ev, 离子源温度: 200℃, 接口温度为: 230℃, 离子检测模式: 选择离子扫描 (SIM), 检测器增益方式: 绝对值 1.00KV, 扫描间隔: 0.2Sec。

峰: 1、杂质 2、杂质

将图5.1 (面粉试样经提取未净化时, GC-NCI-MS-SIM采集的质量色谱图) 与图3.8 (面粉试样经提取净化后, GC-NCI-MS-SIM采集的质量色谱图) 相比, 噪音较小, 背景干扰少, 表明, 采用方法GC-NCI-MS-SIM分析电负性目标物, 试样经提取后不净化, 也能对目标物进行准确定性、定量; 实验中, 为减少试样基质对离子源和色谱柱的污染, 采用硅镁吸附剂净化。

从图 5.2 (面粉试样经提取未净化时, GC-EI-MS-SIM 采集的质量色谱图), MC 图中出现较大的杂质峰 (1、2), 其中杂质峰 2 完全掩盖了目标组分 (水胺硫磷), 即使采用选择离子扫描方式, 也无法对被杂质掩盖的目标物 (水胺硫磷) 进行准确定性、定量; 且噪音太大, 信噪比太低, 也不利于对低含量目标物进行准确的定性、定量分析, 必须净化。

EI 电离源将进入离子源的气化分子断裂成分子离子或者碎片离子, 缺乏选择性, 导致 EI-MS 易受试样基体的干扰而降低方法的灵敏度和增大方法的最低检出限。要得到满意的分析结果, 需要精细的样品前处理手段。可见, 方法 GC-EI-MS-SIM 在抗干扰能力方面, 相比方法 GC-NCI-MS-SIM 差很多, 也说明方法 GC-EI-MS-SIM 对前处理要求高。

5.5 电负性目标物分析方法的比较

本文对方法的最低检出限做了研究, 并与现有作为国标方法的 GC-ECD、GC-EI-MS-SIM 做了对比, 引入了侯圣军、郗向洪*等的文章 (基质固相萃取-气相色谱电子捕获检测器同时测定大米中 12 种有机氯农药残留量) 中部分数据, 和侯圣军、陈丹丹*等的文章 (气相色谱/质谱-选择离子扫描法同时测定大米中的 25 种持久性有机污染物) 中部分数据, 引用的地方都进行标注; 主要比较 GC-ECD、GC-EI-MS-SIM 和 GC-NCI-MS-SIM 等三种方法在分析含电负性原子目标时, 各种分

析方法在最低检出限上的差异，结果见表 5.1。

表5.1 三种方法的比较
Tab.5.1-The comparison of three methods

方 法	农 药	0, P-DDT	P, P-DDT	β -BHC	α -BHC
		$\mu\text{g}/\text{kg}$	$\mu\text{g}/\text{kg}$	$\mu\text{g}/\text{kg}$	$\mu\text{g}/\text{kg}$
	GC-ECD*	1.2	1.4	0.9	0.9
	GC-EI-MS-SIM*	5.0	0.8	3.0	7.0
	GC-NCI-MS-SIM	0.02	0.04	0.01	0.02

从表5.1可以得出结论，在分析有电负性原子农药残留时，方法GC-ECD与方法GC-EI-MS-SIM的最低检出限在同一个数量级，而方法GC-NCI-MS-SIM的最低检出限则提高了20-350倍之间。

5.6 总结

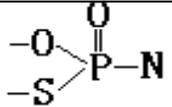
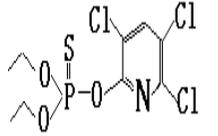
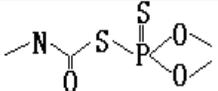
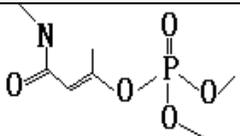
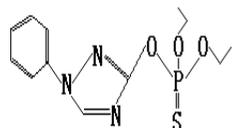
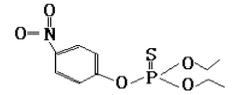
- 1、适于用气相色谱分析、且目标物的结构中含电负性原子的农药残留分析，建议优先考虑GC-NCI-MS-SIM，该方法在选择性、抗干扰能力、最低检出限等方面相比现有作为国标方法的GC-ECD、GC-EI-MS-SIM有较大优势。
- 2、若方法要求对多类农药（有机氯、拟除虫菊酯、有机氮、氨基甲酸酯、除草剂）进行残留分析，只有GC-EI-MS-SIM能满足分析方法的要求，选用选择离子扫描方式，分时间段扫描，能有效地提高信噪比，降低方法的最低检出限，优化好色谱条件和前处理方法，其最低检出限能与GC的几个专属性检测器（ECD、FPD、NPD）的最低检出限基本处于同一数量级。
- 3、若分析有机氮、有机磷和氨基甲酸酯类农药残留，可用GC-NPD摸索色谱条件和前处理方法，GC-EI-MS-SIM定性确证。
- 4、用气相色谱专属性检测器分析复杂试样中农药残留，方法的最低检出限、精密度能满足农药残留分析的要求，但仅仅采用保留时间确定目标组分有一定局限，应采用其余方法（GC-MS、二维色谱、双柱法）加以确证。
- 5、采用气相色谱法对氨基甲酸酯类农药进行分离分析时，一般都需要经过衍生化，本文直接对仲丁威、克百威、异丙威等三类氨基甲酸酯类农药进行分析，没有进行任何衍生化处理，仍然得到了不错的分析结果，并在质谱计上得到了有较好的稳定性和相对强度较高的碎片离子峰。

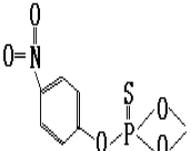
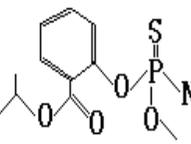
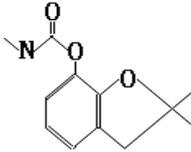
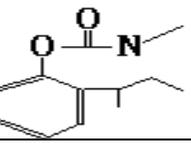
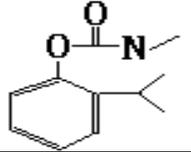
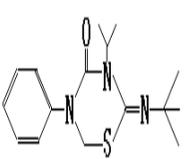
6、本文采用一般毛细管柱，而不是低流失毛细管谱柱，将毛细管柱的老化温度及目标物的特征离子设置合理，仍能得到满足要求的目标物的质谱图。

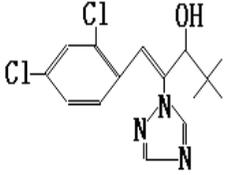
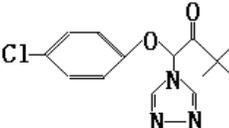
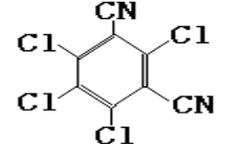
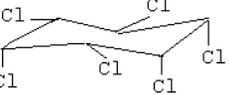
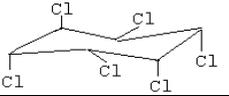
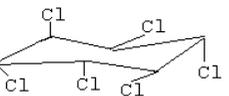
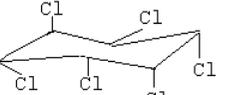
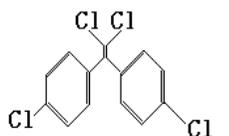
随着人们对于食品中的农药残留问题的日益关注，对分析工作的要求也越来越高，发展更快速、准确、可靠、适合大批量现场检测的分离分析方法是研究的重点。根据上述比较 GC-MS 方法无疑有着突出的优势，它不同的电离源和选择离子选择扫描模式，使质谱仪具备了专属性检测器（ECD、FPD、NPD）一样的甚至更好的选择性和灵敏度，确保了农药残留成分的定性、定量分析；GC-MS 方法适应目前分析工作的要求，符合农药残留分离分析方法的发展趋势。因此，它成为了食品中农药残留组分分析的重要手段之一，GC-MS 联机技术作为分离分析技术进入了农药残留分析领域，成为日常分析工作中经常使用的一种分离分析方法。

附录

表 6.1 27 种农药的性质一览表
Tab. 6.1-The character of 27 pesticides

序号	英文名称	中文名称	结构式	分子式	分子量	CAS	系统命名
1	Methamidophos	甲胺磷		C ₂ H ₈ NO ₂ PS	141	10265-92-6	0, S-二甲基硫代磷酸酯
2	Chlorpyrifos	毒死蜱		C ₉ H ₁₁ Cl ₃ NO ₃ P S	349	2921-88-2	0, 0-二乙基-0-(3, 5, 6-三氯-2-吡啶基)硫代磷酸酯
3	Dimethoate	乐果		C ₅ H ₁₂ NO ₃ PS ₂	229	60-51-5	0, 0-二甲基 S-(N-甲基氨基甲酰甲基)二硫代磷酸酯
4	Monocrotophos	久效磷		C ₇ H ₁₄ NO ₅ P	223	6923-22-4	0, 0-二甲基 (E)-0-[1-甲基-2-(甲基氨基甲酰)]乙烯基磷酸酯
5	Triazophos	三唑磷		C ₁₂ H ₁₆ N ₃ O ₃ PS	313	24017-47-8	0, 0-二甲基-0-1-苯基-1, 2, 4-三唑-3-基硫代磷酸酯
6	Parathion	对硫磷		C ₁₀ H ₁₄ NO ₅ PS	291	56-38-2	0, 0-二乙基-0-(4-硝基苯基)硫代磷酸酯

7	Parathion-methyl	甲基对硫磷		$C_8H_{10}NO_5PS$	263	298-00-0	0, 0-二甲基-0-(4-硝基苯基)硫代磷酸酯
8	Isocarbophos	水胺硫磷		$C_{11}H_{16}NO_4PS$	289	24353-61-5	0-甲基-0-(邻-异丙氧基羰基苯基)硫代磷酰胺
9	Carbofuran	克百威		$C_{12}H_{15}NO_3$	221	1563-66-2	2, 3-二氢-2, 2-二甲基苯并呋喃-7-基-N-甲基氨基甲酸酯
10	Fenobucarb	仲丁威		$C_{12}H_{17}NO_2$	207	3766-81-2	2-仲丁基苯基-N-甲基氨基甲酸酯
11	Isoprocarb	异丙威		$C_{11}H_{15}NO_2$	193	2631-40-5	2-异丙基苯基甲基氨基甲酸酯
12	Buprofezin	噻嗪酮		$C_{16}H_{23}N_3OS$	305	69327-60-0	2-特丁基亚氨基-3-异丙基-5-苯基-3, 4, 5, 6-四氢-2H, 1, 3, 5-噻二嗪-4-酮

13	Diniconazole	烯唑醇		$C_{15}H_{17}N_3OCl_2$	326	60207-90-1	(E)-1-(2,4-二氯苯基)-4,4-二甲基-2-(1,2,4-三唑-1-基)-1-戊烯-3-醇
14	Triadimefon	三唑酮		$C_{14}H_{16}ClN_3O_2$	293	43121-43-3	1-(4-氯苯氧基)1,1-(1H-1,2,4,-三唑-1-基)-3,3-二甲基丁-2-酮
15	Chlorothalonil	百菌清		$C_8N_2Cl_4$	266	1897-45-6	2,4,5,6-四氯-1,3-苯二甲腈
16	α -BHC	α -六六六		$C_6H_6Cl_6$	288	319-84-6	1,2,3,4,5,6-六氯环己烷
17	γ -BHC	γ -六六六		$C_6H_6Cl_6$	288	58-89-9	1,2,3,4,5,6-六氯环己烷
18	β -BHC	β -六六六		$C_6H_6Cl_6$	288	319-85-7	1,2,3,4,5,6-六氯环己烷
19	δ -BHC	δ -六六六		$C_6H_6Cl_6$	288	319-86-8	1,2,3,4,5,6-六氯环己烷
20	P, P-DDE	P, P-DDE		$C_{14}H_8Cl_4$	316	72-55-9	1,1-双(对氯苯基)二氯乙烯

21	P, P-DDD	P, P-DDD		$C_{14}H_{10}Cl_4$	318	72-54-8	1, 1-二氯-2, 2-双(对氯苯基)乙烷
22	O, P-DDT	O, P-DDT		$C_{14}H_9Cl_5$	352	789-02-6	1, 1, 1 三氯-2 对氯苯基-2-邻氯苯基乙烷
23	P, P-DDT	P, P-DDT		$C_{14}H_9Cl_5$	352	50-29-3	1, 1, 1 三氯-双(对氯苯基)乙烷
24	Fenpropathion	甲氰菊酯		$C_{22}H_{23}NO_3$	349	39515-41-8	(RS)- α -氰基-3-苯氧苄基-2, 2, 3, 3-四甲基环丙烷羧酸酯
25	Fenvalerate	氰戊菊酯		$C_{25}H_{22}ClNO_3$	419	51630-58-1	(RS)- α -氰基-3-苯氧苄基-R, S-2-(4 氯苯基)-3-甲基丁酯
26	Deltamethrin	溴氰菊酯		$C_{22}H_{19}Br_2N_2O_3$	503	52918-63-5	(S)- α -氰基-3-苯氧苄基-(1R, 3R)-3-(2, 2-二甲基环丙烷羧酸酯)
27	Beta-cypermethrin	高效氯氰菊酯		$C_{22}H_{19}Cl_2NO_3$	415	97955-44-7	2, 2-二甲基-3-(2, 2-二氯乙烯基)环丙烷羧酸- α -氰基-(3-苯氧基)-苄酯

注：1-8 属于有机磷类农药，9-11 属于氨基甲酸酯类农药，12-14 属于有机氮类农药，15-23 属于有机氯农药，24-27 属于拟除虫菊酯类农药。

[参考文献]

- [1] 陈万义, 薛振祥, 王能武. 新农药研究与开发[M], 北京: 化学工业出版社, 2003
- [2] 邹明强. 农药与农药污染[J]. 大学化学, 2004, 12(6):1-9
- [3] 许艇, 李季. 农产品中的农药残留及其分析技术的发展趋向[J]. 大学化学, 2003, 6(12):5-12
- [4] 韦进宝, 钱沙华. 环境分析化学[M], 北京: 化学工业出版社, 2002
- [5] Sconacher H B, Mes J. Food Addit. contam., 1993, 10(1):5-11
- [6] Wang X. Q, Lin Y. Z., Chen H. J. Hygiene Research, (Supplement 1), 1993, 22:21-28
- [7] Herbert S, Jong-Pyny H. J. Assoc. Off. Anal. Chem. Int., 1992, 75(5):925-933
- [8] 田克智译. 日本厚生省发布最新农药参量标准[M], 2001
- [9] 杨洁彬, 王晶. 食品安全性[M], 北京: 中国轻工业出版社, 1999
- [10] 中化化工标准化研究所. 农药标准汇编(产品卷) HG2212-2003[S]. 北京: 中国标准出版社, 2006
- [11] 中化化工标准化研究所. 农药标准汇编(产品卷) GB9558-2001[S]. 北京: 中国标准出版社, 2006
- [12] 中化化工标准化研究所. 农药标准汇编(产品卷) GB12686-2004[S]. 北京: 中国标准出版社, 2006
- [13] 中化化工标准化研究所. 农药标准汇编(产品卷) HG3671-2000[S]. 北京: 中国标准出版社, 2006
- [14] 中化化工标准化研究所. 农药标准汇编(产品卷) GB19336-2003[S]. 北京: 中国标准出版社, 2006
- [15] 中化化工标准化研究所. 农药标准汇编(产品卷) GB19605-2004[S]. 北京: 中国标准出版社, 2006
- [16] 中化化工标准化研究所. 农药标准汇编(产品卷) HG3295-2001[S]. 北京: 中国标准出版社, 2006
- [17] 中化化工标准化研究所. 农药标准汇编(产品卷) HG2463. 2-1993[S]. 北京: 中国标准出版社, 2006
- [18] GB/T16587-1996, 农药有效成分的气相色谱快速分析方法[S]. 第1部分十二种农药.
- [19] 王骏, 胡梅, 祝建华. 毛细管气相色谱法测定十八种农药的有效成分[J]. 山东轻工业学院学报, 2006, 9(3):59-61
- [20] 黄惠玲, 张薇君. 毛细管气相色谱法测定12种农药的有效成分[J]. 色谱, 2001, 19(4):347-349
- [21] 钟维科, 郗骞. 食品农药残留分析进展[J], 分析化学评述与进展, 2000, 28(7), 904-910

- [22] Guo F P, Yang Z C, Chun L F, Jin J Z, Xue M L. Modification of AOAC Multiresidue Method for Determination of Synthetic Pyrethroid Residues in Fruits, Vegetables and Grain, Part 1: Acetonitrile Extraction System and Optimization of Florisil Cleanup and Gas Chromatography. *JAOAC*, 1995, 78(6): 1481-1488
- [23] Guo F P, Yang Z C, Chun L F, Jin J Z, Xue M L. Modification of AOAC Multiresidue Method for Determination of Synthetic Pyrethroid Residues in Fruits, Vegetables and Grain, Part 2: Acetone Extraction System. *JAOAC*, 1995, 78(6): 1489-1496
- [24] Cunniff P. Official Methods of Analysis of AOAC International. 16th, 1995: Vol. 1
- [25] 江桂斌. 环境样品前处理技术[M], 北京: 化学工业出版社, 2004
- [26] 张海霞, 朱彭龄. 固相萃取[J]. *分析化学*, 2000, 28(9): 1172-1180
- [27] Zou W, Lusk C, Wayne R W, Joseph T V. *J. Assoc. Off. Anal. Chem. Int.*, 1999, :82(1) 141-150
- [28] 姜书会, 徐会君. 固相萃取技术在农药分析中的应用[J]. *农业与技术*, 1999, 19(6): 35-37
- [29] Schenck F J, Wagner R. *Food Addit. Contam.*, 1995, 12(4): 535-541
- [30] Cessna A J, Bendoit D L. *Pestic. Sci.*, 1992, 35(4): 355-364
- [31] Cessna A J. *J. Agric. Food Chem.*, 1992, 40(7): 1154-1157
- [32] Wan H. *J. Chromatogr.*, 1990, 516(2): 446-449
- [33] Tsumura Y, Wada I, Fujiwara Y. *J. Agric. Food Chem.*, 1994, 42(12): 2922-2925
- [34] Pestersen J H, Jensen K G, Lebensm Z. *Unters. Forsh.*, 1986, 182: 489-497
- [35] Lores E M, More J C, Moody P. *Chemosphere*[J], 1987, 16(5): 1065-1069
- [36] 胡敏, 李二虎. 高效液相色谱法测定大米中氨基甲酸酯类农药残留[J]. *农药*, 2006, 2(2): 123-124
- [37] 贺德春, 杨仁斌. 用气相色谱法测定面粉和大米中 14 种农药残留量[J]. *湖南农业大学学报(自然科学版)*, 2004, 4(2): 161-164
- [38] 李洪波, 王绪卿. 国外医学卫生学分册[M], 1991, 1: 22-24
- [39] Ault J A, Schofield C M, Johnson L D. Automated gel permeation chromatographic preparation of vegetables, fruits and crops for organophosphate residue determination utilizing flame photometric detection [J], *J Agric Food Chem*, 1979, 27: 825-828
- [40] Holsgete D M, Scharberg D L, Richardson E R. Multi-residue screen for organophosphorus insecticides using gel permeation chromatography-silica gel cleanup[J], *JAOAC*, 1991, 74(2): 394-399
- [41] 张伟国, 储晓刚. 气相色谱-离子阱质谱-选择离子方法同时检测大米中百种农药残留[J].

- 分析化学, 2006, 4(34):484-488
- [42]李樱, 储晓刚. 凝胶渗透色谱和固相萃取净化-气相色谱分离组合法测定糙米中的残留农药[J]. 分析化学, 2004, 10(10):1325-1328
- [43]刘咏梅, 王志华. 凝胶渗透色谱净化-气相色谱分离同时测定糙米中50种有机磷农药残留[J]. 分析化学研究简报, 2005, 6(6):808-810
- [44]Barker S A, Long A R, Short C R. J. Chromatogr., 1989, 475(1):353-361
- [45]侯圣军, 郝向洪. 基质固相萃取-相色谱电子捕获检测器同时测定大米中12种有机氯农药残留量[J]. 分析实验室, 2007, 5(5):115-117
- [46]Torres C M, Pico Y, Redondo M J J. Matri Solid-phase dispersion extraction procedure for multiresidue pesticide analysis in oranges [J], J Chromatogr. A, 1996, 7(9):95-101
- [47]俞勇, 邹图德. 大米中11种有机氯农药残留量的同时测定[J]. 江西化工, 2004(1):79-82
- [48]张伟国, 储晓刚. 凝胶渗透色谱技术用于检测大米中拟除虫菊酯类农药的残留量[J]. 农药, 2005, 8(8):372-374
- [49]龚道新, 杨仁斌. 气相色谱氮磷检测器法检测大米、面粉中22种有机磷和有机氮农药多残留[J]. 农业环境科学学报, 2005, 4(6):1243-1248
- [50]刘爱洁, 尹笃林. 气相色谱法测定大米中多种有机磷农药残留量[J]. 湖南师范大学自然科学学报, 2001, 3(1):50-54
- [51]Cuadros Rodriguez L, Hernandex Torres M E, Almansa Lopez E, Egea Gonzalez F J, Arrebola Liebanas F J, Martinez Vidal J L. Assessment of Uncertainty in Pesticide Multiresidue Analytical Methods: Main Source and Estimation. Analytical Chemica. Acta, 2002, 454(2):297-314
- [52]Hiroataka Obana, Kazuhiko Akutau. Multiresidue analysis of pesticides in vegetables and fruits using two-layered with graphitized carbon and water absorbent polymer[J]. Analyst, 2001, 126:1529-1534
- [53]李木昌, 范理, 梁渡湘, 钱传范. 二维气相色谱技术及其在农药多残留分析中的应用[J]. 农药科学与管理, 1994, 1:26-31
- [54]龚勇, 秦冬梅. 气相色谱多柱双检测器系统在农药多残留分析中的应用[J]. 农药科学与管理, 2000, 21(3):9-15
- [55]Ana A, Luis P, Maria D H, Amadeo R, Fernandez A, Mariano C. Splitless Large-Volume GC-MS Injection for the Analysis of Organophosphorus and Organochlorine Pesticides in Vegetables Using a Miniaturised Ethyl Acetate Extravtion. Analyst, 2000, 125:1397-1402

- [56] Mogadati P, Louis J B, Rosen J D. Multiresidue Determination of Pesticides in High-organic-content Soils By solid-phase Extraction and Gas Chromatography/Mass Spectrometry. *JAOC*, 1999, 82 (3):705-715
- [57] 胡小钟, 储晓刚. 气相色谱-质谱法快速筛选测定浓缩苹果汁中105种农药残留量[J]. *分析测试学报*, 2003, 12 (6) :26-31
- [58] Blake T A, Zheng X B, Aggerholm T. Determination of pentachlorophenol by negative ion chemical ionization with membrane introduction mass spectrometry [J] *Analyst* ,2002, 127:1463-1466
- [59] Niessner G, BuchSerger W, Eckerstorfer R. Multi-residue screening methods for the detemination of pesticides in plants materials[J]. *J Chromatogr A*, 1999, 846: 341-348
- [60] 沈崇钰, 沈伟健. 气相色谱-负化学源质谱联用法测定菊酯类农药[J]. *分析化学研究报告*, 2006, 9:36-40
- [61] 林竹光, 金珍. GC-NCI-MS分析茶叶中17种有机氯和拟除虫菊酯农药残留[J]. *高等学校化学学报*, 2005, 12(26) :2218-2222
- [62] 丁涛, 徐锦忠. 高液相色谱-柱后衍生和质谱联用测定大米中氨基甲酸酯类农药残留量[J]. *分析试验室*, 2007, 9(9) :77-80
- [63] 王建华, 王国涛, 袁社梅. 超临界流体萃取-气相色谱法测定水果蔬菜中有机磷农药残留量[J]. *分析试验室*, 1999, 18(6) :55-57
- [64] Benz J, Garrison D. Optimization of separations of alkyl-substituted Phenolate anions by capillary [J] *Lone Electrophoresis*, 1995, 18(3) :175-178
- [65] 杨曼君. 农药残留的免疫方法[J]. *农药科学与管理*, 1996, 60(4) :20-22
- [66] 中国国家标准局 GB/T20770-2006. 粮谷中372种农药及相关化学品残留量的测定 液相色谱-串联质谱法[S]. 北京: 国家标准出版社, 2007
- [67] 中国国家标准局 GB/T20771-2006. 蜂蜜、果汁和果酒中420种农药及相关化学品残留量的测定 液相色谱-串联质谱法[S]. 北京: 国家标准出版社, 2007
- [68] 中国国家标准局 GB/T20772-2006 动物肌肉中380种农药及相关化学品残留量的测定 液相色谱-串联质谱法[S]. 北京: 国家标准出版社, 2007
- [69] 中国国家标准局 GB/T19650-2006 动物肌肉中478种农药及相关化学品残留量的测定 气相色谱-质谱法GB/T19650-2006[S]. 北京: 国家标准出版社, 2007
- [70] 中国国家标准局 GB/T19426-2006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[S]. 北京: 国家标准出版社, 2007
- [71] 中国国家标准局 GB/T19648-2006 水果和蔬菜中500种农药及相关化学品残留量的测定

- 气相色谱-质谱法[S]. 北京：国家标准出版社，2007
- [72] 中国国家标准局 GB/T19649-2006 粮谷中475种农药及相关化学品残留量的测定 气相色谱-质谱法[S]. 北京：国家标准出版社，2007
- [73] 中国国家标准局 GB/T20769-2006 水果和蔬菜中405种农药及相关化学品残留量的测定 液相色谱-串联质谱法[S]. 北京：国家标准出版社，2007
- [74] 王素娟，裴月湖，孙秀燕. 有机氯农药、有机磷农药的EIMS、NCIMS 和PCIMS 质谱[J]. 农药，2004, 8 (8) :348-351
- [75] Draper W M, J Agric Food Chem[M], 1995, 43:2077
- [76] 许国旺 现代实用气相色谱法[M]，北京：化学工业出版社，2004

致 谢

本论文是在导师张承聪老师的悉心指导下完成的，导师从选题、课题研究到论文撰写都倾注了大量心血，并给予了我无微不至的关怀与帮助。导师严谨的治学态度和孜孜不倦的教诲我将铭记于心，谨向我的导师致以深深的谢意。在今后的求学道路上，我会严格要求自己，不负老师教诲。

我以同样诚挚的感情向热心教导和帮助过我的云南省农药检定所周金玉站长、王德海所长、吴晓波副所长、屈天尧老师、朱小江老师表示谢意。同时还要感谢马莉莉师妹、杨卫花师妹及我所有的同学和朋友。

在此，我还要感谢所有的任课老师，有缘成为您们的学生，是我人生的一大幸事。

最后，特别感谢我的父母和亲人在研究生期间给予我的关心和支持。

攻读硕士学位期间发表学术论文目录

- 1、罗发美，马莉莉，张承聪，王德海，吴晓波. 毛细管气相色谱法快速测定 14 种农药的有效成分. 分析实验室，已接收
- 2、罗发美，周金玉，张承聪，马莉莉. GC-NCI-MS 分析大米和面粉中多类农药残留. 云南大学学报，已投出

