

气相色谱 - 负化学离子化 - 质谱法同时分析 果蔬中 9 种有机磷农药残留

范玉兰¹, 王星梅¹, 薛 珺¹, 李 勋^{1,*}, 林竹光²

(1. 赣南师范学院化学化工学院, 江西 赣州 341000; 2. 厦门大学化学化工学院, 福建 厦门 361005)

摘 要: 建立同时分析果蔬中多种有机磷农药残留。果蔬样品经乙酸乙酯提取剂提取与 Florisil 硅藻土层析柱净化后, 以乙硫磷为内标物, 采用气相色谱 - 负化学离子化 - 质谱法同时的选择离子监测方式对多种有机磷农药残留进行定性与定量分析。结果表明: 此方法快速、简便、灵敏度高和选择性好; 9 种有机磷农药残留的检测限为 0.12~1.21 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 平均回收率为 76.5%~112%, 相对标准偏差为 1.45%~11.0%。

关键词: 气相色谱 - 负化学离子化 - 质谱法; 有机磷农药; 农药残留; 水果; 蔬菜

Multiresidue Determination of Organophosphorus Pesticides in Fruits and Vegetables by Gas Chromatography-Negative Chemical Ionization-Mass Spectrometry

FAN Yu-lan¹, WANG Xing-mei¹, XUE Jun¹, LI Xun^{1,*}, LIN Zhu-guang²

(1. College of Chemistry and Chemical Engineering, Gannan Normal University, Ganzhou 341000, China

2. College of Chemistry and Chemical Engineering, Xiamen University, Xiamen 361005, China)

Abstract A gas chromatography-negative chemical ionization-mass spectrometry (GC-NCI-MS) method was established to simultaneously determine 9 organophosphorus pesticide residues in fruits and vegetables. Samples were extracted with ethyl acetate and cleaned up on a Florisil column before GC-NCI-MS analysis in a selective ion-monitoring (SIM) mode. The internal standard used was ethion. The presented method was rapid, simple, sensitive and selective. The detection limits of this method for 9 organophosphorus pesticides were in the range of 0.12—1.21 $\mu\text{g}/\text{kg}$. The average recovery rates of 9 organophosphorus pesticides varied from 76.5% to 112% with a relative standard deviation of 1.45%—11.0%.

Key words: gas chromatography-negative chemical ionization-mass spectrometry (GC-NCI-MS); organophosphorus pesticides; pesticide residues; fruits; vegetables

中图分类号: TS207.3

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2012)18-0198-04

自从 1984 年我国停止使用有机氯农药以来, 有机磷农药已经成为果蔬中主要的农药污染物, 其污染问题日益突出^[1-2]。由于有机磷农药化学性质不稳定、易分解, 农产品污染后残留半衰期较短, 所以对人体的危害以急性毒性为主, 而果蔬由于其生长周期短、害虫多、农药施用量大, 且使用的频率较高, 加之非科学地施用, 因此农药残留超标问题比较突出。

气相色谱 - 质谱联用仪(gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS)常用的是电子电离源(electron ionization, EI), 还可以采用负化学离子源(negative chemical ionization, NCI), NCI-MS 被称为“软电离

源”, 对含电负性基团目标物的分析具有高选择性和高灵敏度。对于多数有机化合物来说, NCI-MS 的灵敏度要比 EI-MS 的灵敏度高 2~3 个数量级, NCI-MS 已逐步成为带电负性基团目标化合物的定量分析方法。目前, 国内外学者已经将 GC-NCI-MS 应用于多溴联苯醚^[3-4]、氯霉素^[5]、除草剂^[6]、有机氯农药^[7-8]、拟除虫菊酯农药^[9-10]、有机磷农药^[11-13]和安非他明^[14]等残留物的分析研究, 证明了在分析电负性目标物方面, GC-NCI-MS 是比 GC-EI-MS 更有优势的分析方法。有机磷农药在 NCI-MS 中主要产生磷酸酯基负离子^[15], 所以 GC-NCI-MS 可成为此类痕量农药残留的特征分析方法。GC-NCI-MS 方

收稿日期: 2011-07-31

基金项目: 江西省自然科学基金项目(2009GQH0018); 江西省教育厅科学技术研究项目(GJJ09580)

作者简介: 范玉兰(1979—), 女, 讲师, 硕士, 研究方向为色谱 - 质谱分析。E-mail: yulanfan@sina.com

* 通信作者: 李勋(1968—), 男, 教授, 博士, 研究方向为光谱分析。E-mail: lixun@gnnu.edu.cn

面的研究在国内开展较迟,其在食品中农药残留分析方面的文献报道较少,因此GC-NCI-MS方法的技术与应用是个很有发展空间的研究方向。在检测有机磷农药残留中GC-NCI-MS法与GC-EI-MS法相比,其中前者灵敏度高、抗干扰能力强;而后者灵敏度不高,容易出现假阴性现象。本实验拟采用GC-NCI-MS法建立果蔬中9种有机磷农药残留的分析方法。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

三硫磷、毒死蜱、杀螟硫磷、乙硫磷、稻丰散、二嗪农、甲拌磷、乐果、马拉硫磷和甲基对硫磷农药标准物质购自农业部环境保护科研监测所,以上质量浓度均为 $(100 \pm 0.15) \mu\text{g/mL}$,以丙酮为介质,1.00mL规格密封于玻璃安瓿瓶中。

乙酸乙酯和丙酮(农残级) 美国Tedia公司;无水硫酸钠(分析纯,450℃马弗炉中烘烤4h,贮存于干燥器中) 中国医药集团上海化学试剂分公司;100~200目Florisisil硅藻土(分析纯,在650℃马弗炉中烘烤4h,贮存于干燥器中,使用前于140℃烘箱中烘烤2h,加5%超纯水去活,存于密闭容器中) 中国医药集团上海化学试剂分公司。

1.2 仪器与设备

GC-MS QP 2010 气相色谱-质谱联用仪(配备EI、PCI、NCI离子源,LabSolution 2.10色-质工作站) 日本岛津公司;HR7633 食品加工机 广东珠海飞利浦公司;KQ 3200E 超声波清洗器 江苏昆山市超声仪器有限公司;DK-S22 型电热恒温水浴锅 上海精宏实验设备有限公司;TDL-40B 台式离心机 上海安亭科学仪器厂。

1.3 方法

1.3.1 色谱条件

色谱柱:J&W DB-5 石英毛细柱(30m × 0.25mm, 0.25 μm);高纯He(纯度>99.999%);升温程序:120℃保持6min,以25℃/min升至230℃,然后以2.0℃/min升至236℃,再以20℃/min升至270℃,保持2min;进样口温度:210℃;柱流量控制模式:恒线速度37.5cm/s;进样模式:不分流;分流阀开启时间1.00min;进样体积:1.00 μL。

1.3.2 NCI-MS 质谱条件

离子源温度:200℃;离子化电压:70eV;灯丝发射电流:60 μA;打拿极电压:10kV;分析器电压:1.02kV;溶剂切除时间:8.0min;质谱扫描:全扫描方式扫描间隔时间0.4s;扫描范围50~550u;选择离子监测(selected ion monitoring, SIM)方式;扫描间隔时

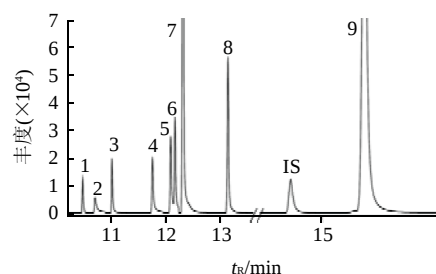
间0.2s;反应气:甲烷(纯度:99.95%以上);反应气输出压力:3.5kg/cm²;离子源真空度: $3.00 \times 10^{-3} \text{Pa}$;定量方法:内标法(以峰面积计)。

1.4 样品处理

切除果蔬试样(黄瓜、梨、苹果、西红柿和芹菜等)的非食用部分,可食部分放入食品加工机内搅碎,均匀搅拌后,称取10.0g搅碎的试样于100mL玻璃离心管中,加入30mL的乙酸乙酯提取剂,置于超声波清洗器内超声提取15min,离心分离5min(2500r/min),然后转移出上层提取剂;残渣再分别用15、10mL乙酸乙酯提取剂各超声提取10min,离心分离5min(2500r/min),合并3次提取液,加入适量无水硫酸钠除水后置于45℃恒温水浴中,氮吹浓缩至约5mL。在20cm(长)×1.5cm(内径)的玻璃层析柱内依次填入1cm高的无水硫酸钠、3.5g Florisisil 硅藻土、1cm高的无水硫酸钠;先用10mL乙酸乙酯预淋洗层析柱,再将浓缩的提取液转移至层析柱内,然后用20mL乙酸乙酯洗脱剂洗脱;洗脱结束后,把洗脱液置于40℃恒温水浴中氮吹浓缩至近干,然后加入1.00mL 100ng/mL乙硫磷内标溶液溶解于带刻度的小测试瓶中,氮吹定容至1.00mL,待测。

2 结果与分析

2.1 特征离子的选择



1. 甲拌磷; 2. 乐果; 3. 二嗪农; 4. 甲基对硫磷; 5. 杀螟硫磷; 6. 马拉硫磷; 7. 毒死蜱; 8. 稻丰散; 9. 三硫磷; IS 为内标物乙硫磷。下同。

图1 9种有机磷农药及内标物GC-NCI-MS SIM 色谱图

Fig.1 GC-NCI-MS SIM chromatogram of 9 organophosphorus pesticides and internal standard

在选定的实验条件下,首先通过GC-NCI-MS的全扫描方式(m/z 40~400)得到总离子流色谱图,然后根据NCI-MS和TIC谱图来选择相对丰度较高和 m/z 较大的特征阴离子进行GC-NCI-MS SIM分析(图1),9种有机磷农药和内标物的保留时间和特征阴离子的选择见表1。从图1和表1可知,9种有机磷农药得到很好的分离,其负离子质谱碎裂方式比较单一,在所分析的9种有机磷农药和内标物中,除毒死蜱的NCI-MS谱图较复杂外,甲拌磷、乐果、二嗪农、马拉硫磷、稻丰散和

乙硫磷的 NCI-MS 谱图中只有一个碎片离子, 而甲基对硫磷、杀螟硫磷和三硫磷也只有两个主要碎片离子。

表 1 9 种有机磷农药和内标物的保留时间、定量离子和定量离子丰度比

出峰顺序	农药名称	保留时间/min	定量离子(m/z)	离子丰度比/%
1	甲拌磷	10.487	185	100
2	乐果	10.710	157	100
3	二嗪农	11.020	169	100
4	甲基对硫磷	11.757	154、263	100:15
5	杀螟硫磷	12.090	168、277	100:25
6	马拉硫磷	12.173	157	100
7	毒死蜱	12.317	313、169、212、214、315	100:87:73:72:70
8	稻丰散	13.140	157	100
9	乙硫磷	14.800	185	100
9	三硫磷	15.257	185、143	100:54

2.2 进样口温度的选择

由于有机磷农药的沸点较低, 部分有机磷农药不耐高温, 针对这种现象对不同进样口的温度进行了实验, 在改变进样口温度而固定 GC 和 MS 条件下选择 500ng/mL 内标和有机磷农药混合标准溶液进行了实验, 设置进样口温度分别为 150、170、190、210、230、250、270℃, 考察进样口温度与目标物响应信号关系(图 2)。从图 2 可以看出, 当温度从 150℃ 升到 210℃ 时, 9 种有机磷农药和内标物 GC-NCI-MS 分析的响应信号逐渐增强, 在高于 210℃ 后随温度升高响应信号略有降低, 因此综合九种有机磷农药和内标物的响应信号与进样口温度关系, 选定了最佳进样口温度为 210℃。

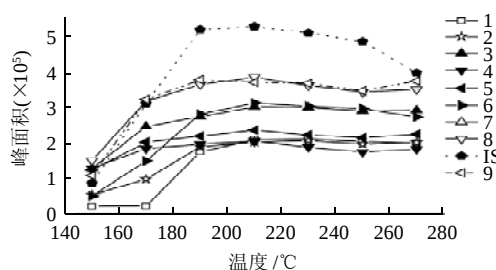


图 2 进样口温度与 9 种有机磷农药以及内标物的响应信号关系图
Fig.2 Peak area response as a function of injector temperature for the injection of 9 organophosphorus pesticides and internal standard

2.3 NCI-MS 反应气压力的选择

MS 中的化学电离源(chemical ionization, CI)是通过引入大量离子-分子反应产生一些活性离子, 这些活性离子再与目标物分子发生离子-分子反应, 使目标物分子实现电离。当化学电离源中反应气的分压不同时, 这

些反应离子的浓度也随之发生改变, 因此在不同的反应气压力下, 目标物分子的反应特征离子的响应信号强度也不同。

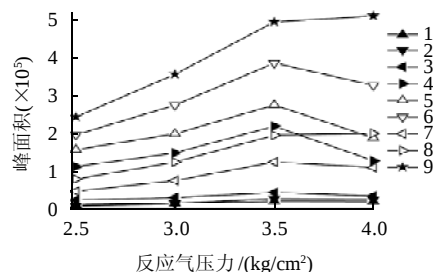


图 3 9 种有机磷农药响应信号强度与反应气压力的关系图
Fig.3 Peak area response as a function of reaction gas pressure for 9 organophosphorus pesticides

在改变反应气压力并固定 GC 和 MS 条件下进行实验, 选择 500ng/mL 内标和有机磷农药混合标准溶液进行实验验证, 得到了反应气压力与响应信号关系图(图 3)。从图 3 可以看出, 当反应气压力由 2.5kg/cm² 增加到 3.5kg/cm² 时, 目标物的响应信号强度逐渐增大; 当增加到 4.0kg/cm² 时, 目标物响应信号强度反而减小, 因此选择最佳甲烷反应气压力为 3.5kg/cm²。

2.4 线性回归方程、相关系数与检测限

表 2 9 种农药的线性范围、线性方程、相关系数及最低检出限
Table 2 Linear equations, linear ranges, correlation coefficients and detection limits of 9 organophosphorus pesticides

标样	农药	线性范围/(mg/kg)	线性方程	R	LOD/(μg/kg)
1	甲拌磷	0.05~1.0	$y = 166.07x - 214.29$	0.9906	1.00
2	乐果	0.05~1.0	$y = 0.0033x - 0.3792$	0.9897	0.25
3	二嗪农	0.05~1.0	$y = 0.0047x - 0.413$	0.9907	0.85
4	甲基对硫磷	0.05~1.0	$y = 0.0043x - 0.0753$	0.9979	0.22
5	杀螟硫磷	0.05~1.0	$y = 0.0062x - 0.291$	0.9974	0.34
6	马拉硫磷	0.05~1.0	$y = 0.0081x - 0.5701$	0.9929	0.53
7	毒死蜱	0.05~1.0	$y = 0.0569x - 3.502$	0.9916	0.12
8	稻丰散	0.05~1.0	$y = 0.0159x - 1.1886$	0.9911	0.43
9	三硫磷	0.05~1.0	$y = 0.0445x - 2.6937$	0.9948	1.21

分别取 1.00μL 质量浓度分别为 50、100、200、400、600、800、1000ng/kg 的有机磷农药系列标准混合溶液进行 GC-NCI-MS SIM 分析, 获取各自的 GC-NCI-MS SIM 色谱图。以分析物与内标物的峰面积比值($y = A_i/A_s$)对分析物与内标物的浓度比值($x = C_i/C_s$)作线性回归分析(表 2)。从表 2 可以看出, 9 种有机磷农药在测定范围内线性相关性好, 最低检出限(limit of detection, LOD)保持在 0.12~1.21μg/kg 之间。

2.5 回收率和精密度

为考察该方法的回收率与精密度情况, 提前一天在 10.0g 空白黄瓜试样中(均不含目标物)分别添加相当于试

样含 100、400、800 $\mu\text{g/kg}$ 水平的 9 种有机磷农药的混合标准溶液,充分混匀后放置过夜,然后按照步骤 1.4 节操作,平行 5 次,结果见表 3。由表 3 可知,方法的平均加标回收率为 76.5%~112%,相对标准偏差(RSD)为 1.45~17.1%。进一步证明了该方法的可行性。

表 3 黄瓜中 9 种农药的加标回收率和相对标准偏差 ($n = 5$)
Table 3 Spike recovery rates and relative standard deviations for 9 organophosphorus pesticides in cucumber ($n = 5$)

农药	100 $\mu\text{g/kg}$		400 $\mu\text{g/kg}$		800 $\mu\text{g/kg}$	
	回收率/%	RSD/%	回收率/%	RSD/%	回收率/%	RSD/%
甲拌磷	76.5	13.3	78.3	11.0	85.9	9.08
乐果	93.5	17.1	102	13.9	112	9.64
二嗪农	97.2	4.42	95.4	7.13	96.8	5.37
甲基对硫磷	87.2	6.54	104	4.62	102	2.06
杀螟硫磷	90.4	8.74	109	4.86	98.7	3.95
马拉硫磷	89.9	3.00	102	5.88	93.1	3.44
毒死蜱	78.3	14.8	94.8	5.17	87.6	7.53
稻丰散	98.2	3.56	99.7	2.41	96.3	1.45
三硫磷	86.4	1.50	94.7	3.38	93.5	4.39

3 结 论

本方法对果蔬中有机磷农药残留的 GC-NCI-MS 分析方法的研究。优化了仪器进样口温度和负化学离子源反应气压力。为了验证本方法的有效性,进一步考察了方法的线性方程、线性范围、最低检出限、空白试样加标回收率及相对标准偏差等指标。实验证明,该方法可用于果蔬中有机磷农药残留分析。GC-NCI-MS 方法测定果蔬中有机磷农药与国家标准方法^[16]相比,NCI 方式谱图中目标物信号强、基线平稳及噪声降低,因此信噪比好,分析灵敏度高,在定性和定量分析两方面都能够满足有机磷农药残留的分析工作要求,是农药残留分析领域非常有发展前景的方法。

参考文献:

- [1] 葛晓光,张智敏.绿色蔬菜生产[M].北京:中国农业出版社,1997: 54.
- [2] 汪雅谷,张四荣.无污染蔬菜生产的理论与实践[M].北京:中国农业出版社,2001: 13.
- [3] LACORTE S, GUILLAMON M. Validation of a pressurized solvent extraction and GC-NCI-MS method for the low level determination of 40 polybrominated diphenyl ethers in mothers' milk[J]. Chemosphere, 2008, 73(1): 70-75.
- [4] 马玉,林竹光.气相色谱-负离子化学源/质谱法(GC-NCI/MS)分析鱼类和贝类样品中多溴联苯醚和多溴联苯[J].分析实验室,2011, 30(4): 99-103.
- [5] SHEN Jianzhong, XIA Xi, JIANG Haiyang, et al. Determination of chloramphenicol, thiamphenicol, florfenicol, and florfenicol amine in poultry and porcine muscle and liver by gas chromatography-negative chemical ionization mass spectrometry[J]. Journal of Chromatography B, 2009, 877(14/15): 1523-1529.
- [6] 沈伟健,徐锦忠,赵增运,等.气相色谱负化学源质谱法测定蔬菜中 11 种醚类除草剂残留[J].分析化学研究报告,2008, 36(5): 663-667.
- [7] RIVERA-RODRIGUEZ L B, RODRIGUE-ESTRELLA R, ELLINGTON J J, et al. Quantification of low levels of organochlorine pesticides using small volumes ($\leq 100 \mu\text{L}$) of plasma of wild birds through gas chromatography negative chemical ionization mass spectrometry[J]. Environmental Pollution, 2007, 148(2): 654-662.
- [8] 王英,元学奎,马召辉,等.气相色谱/负化学电离源质谱法测定底泥中的有机氯农药[J].化学通报,2011, 74(3): 264-269.
- [9] 胡贝贞,沈国军,邵铁峰,等.加速溶剂萃取-气相色谱-负化学离子源质谱法测定茶叶中有机氯和拟除虫菊酯类农药残留量[J].分析实验室,2009, 28(1): 80-83.
- [10] FEO M L, ELJARRAT E, BARCELÓD. A rapid and sensitive analytical method for the determination of 14 pyrethroids in water samples[J]. Journal of Chromatography A, 2010, 1217(15): 2248-2253.
- [11] RUSSO M V, CAMPANELLA L, AVINO P. Determination of organophosphorus pesticide residues in human tissues by capillary gas chromatography-negative chemical ionization mass spectrometry analysis[J]. Journal of Chromatography B, 2002, 780(2): 431-441.
- [12] AMENDOLA L, BOTRÉF, CAROLLO A S, et al. Analysis of organophosphorus pesticides by gas chromatography-mass spectrometry with negative chemical ionization: a study on the ionization conditions[J]. Analytica Chimica Acta, 2002, 461(1): 97-108.
- [13] 郑向华,方恩华,吴敏,等.气相色谱-负化学离子源质谱联用法测定植物性产品中多组分农药残留量[J].分析实验室,2009, 28(9): 99-102.
- [14] MARTINS L, YEGLES M, CHUNG M, et al. Simultaneous enantioselective determination of amphetamine and congeners in hair specimens by negative chemical ionization gas chromatography-mass spectrometry[J]. Journal of Chromatography B, 2005, 825(1): 57-62.
- [15] BUDZIKIEWICZ H. Negative chemical ionization (NCI) of organic compounds[J]. Mass Spectrometry Reviews, 1986, 5(6): 345-380.
- [16] 刘潇威,买光熙,李凌云,等. NY/T 791—2008 蔬菜和水果中有机磷、有机氯、拟除虫菊酯和氨基甲酸酯类农药多残留的测定[S].北京:中国农业出版社,2008.