第 28卷 第 12期
2009年 12月
分析测试学报
FENXICESHIXUEBAO (Journal of Instrumental Analysis)
Vol. 28 No. 12
1433~ 1439

凝胶渗透色谱净化/液相色谱-串联质谱法对动物脂肪中 111种农药残留量的同时测定

纪欣欣[1], 石志红[1], 曹彦忠[2], 石利利[3], 王 娜[3], 庞国芳[2]

(1. 河北大学 化学与环境工程学院, 河北 保定 071000; 2. 秦皇岛出入境检验检疫局, 河北 秦皇岛 066002; 3. 环境保护部南京环境科学研究所, 江苏 南京 210042)

摘 要: 建立了液相色谱-串联质谱法同时测定动物脂肪中 111种农药残留的分析方法。样品经乙腈均质提取 2次, 旋转蒸发浓缩后经过凝胶渗透色谱净化。111种农药在 Atlantis T3柱上以乙腈和 0.1% 甲酸溶液为流动相, 梯度洗脱条件下完成分离, 采用电喷雾电离串联质谱在正离子多反应监测模式下进行测定。目标化合物的保留时间为 2.4~ 33.8 min, 线性相关系数为 0.984 5~ 0.999 9; 在 4种动物脂肪中分别添加 1倍、2倍、4倍定量下限 3个水平的平均回收率为 60%~ 120%, 相对标准偏差为 0.6%~ 19.8%; 111种农药在动物脂肪中的检出限为 0.20~ 960 μg/kg, 定量下限为 0.40~ 2 400 μg/kg。该方法操作简单、灵敏度高、选择性好, 符合农药多残留分析的要求。

关键词: 凝胶渗透色谱; 液相色谱-串联质谱; 动物脂肪; 农药残留

中图分类号: O657.72; F767.2 文献标识码: A 文章编号: 1004-4957(2009)12-1433-07

doi: 10.3969/j.issn.1004-4957.2009.12.017

Determination of 111 Pesticides Residues in Animal Fat by Gel Permeation Chromatography Purification/Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry

JI Xin-xin[1], SHI Zhi-hong[1], CAO Yan-zhong[2], SHI Li-li[3], WANG Na[3], PANG Guo-fang[2]

(1. College of Chemistry and Environmental Science, Hebei University, Baoding 071000, China; 2. Qinhuangdao Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Qinhuangdao 066002, China; 3. Nanjing Institute of Environmental Science, Department of Environmental Protection, Nanjing 210042, China)

Abstract A new analytical method was established for the simultaneous determination of 111 pesticide residues in animal fat by liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS). The sample was extracted with acetonitrile using a high speed homogenizer and cleaned up on a gel permeation chromatography (GPC) using ethyl acetate-cyclohexane (1∶1, by volume) as mobile phase. The 24-48 min elute fraction was collected for subsequent analysis. The target compounds were separated on a Atlantis T3 column by gradient elution with acetonitrile and 0.1% formic acid solution (by volume) as mobile phase and 111 pesticide residues were quantified in positive multiple reaction monitoring mode (MRM). The retention time of the pesticide residues were between 2.4-33.8 min, and the linear correlation coefficients were in the range of 0.984 5-0.999 9. The limit of detection (LOD) for 111 pesticides in animal fat were between 0.20 μg/kg and 960 μg/kg, and the LOQ were between 0.40 μg/kg and 2 400 μg/kg. At the spiked level of limit of quantification (LOQ), 2 times of LOQ and 4 times of LOQ in four animal fat, such as pork, chicken, beef, mutton, the recoveries of the pesticide residues were between 60% and 120% and the relative standard deviations were in the range of 0.6%-19.8%. The established method is simple, sensitive and selective, and could meet the requirement of pesticide multi-residues analysis.

Key words: gel permeation chromatography; LC-MS/MS; animal fat; pesticide residues

随着农药、化肥、农用薄膜和饲料添加剂的大量使用, 有毒有害物质对农产品造成的污染成为食

收稿日期: 2009-09-03; 修回日期: 2009-10-17
基金项目: 环境保护部公益性环保项目 (200809102)
第一作者: 纪欣欣 (1983-), 女, 河北秦皇岛人, 硕士研究生
通讯作者: 石志红, Tel: 13582289470, E-mail: shizhihong@hbu.edu.cn

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

品安全问题的主要来源之一[1]。农药经过食物链和生物富集作用主要积聚于动物的脂肪组织[2-3]。作为人们日常饮食必不可少的食物，动物脂肪中的农药污染日益受到人们的关注。因此，建立动物脂肪中多种农药残留的分析方法十分必要。

目前常用的样品前处理方法有固相萃取法[4-5]、加速溶剂萃取法[6-7]，这些方法对测定动物脂肪中多种类型的农药残留有一定的局限性。由于脂肪的主要成分是饱和脂肪酸，相对分子质量一般很大，而有机农药一般为小分子，因此采用凝胶渗透色谱(GPC)技术将残留农药与油脂基体分离，效果比较理想。目前凝胶渗透色谱技术已用于板栗、松子仁、茶叶、牛奶、鸡蛋、动物肌肉等含油样品的油脂分离[8-18]。本文在参考上述文献的基础上，通过对不同提取溶剂、提取方法和净化方式以及不同仪器测定灵敏度的对比研究，确定采用乙腈均质提取，凝胶渗透色谱净化，LC-MS/MS测定动物脂肪中111种农药残留的分析方法。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

3200 QTRAP液相色谱-串联质谱仪，配有电喷雾离子源(美国 Applied Biosystems公司)；Accu-Prep MPS凝胶渗透色谱仪，配有 BIO-Beads S-X3，360 mm×25 mm净化柱(美国 J2 scientific公司)；ASE 300快速溶剂提取仪(美国 DIONEX公司)；T25型均质器(德国 ZKALABORTECHNIK公司)；SA 300振荡器(日本 Yamato公司)；EL131型旋转蒸发器(瑞士 Büchi公司)，配有日本 BP-51型真空冷却系统(日本 Yamato公司)；N-EVAP 112氮气浓缩仪(美国 Organomation Associates公司)；KDC-40低速离心机(科大创新股份有限公司)。

乙腈、环己烷、乙酸乙酯、正己烷、二氯甲烷、丙酮、甲醇、甲酸(均为色谱纯)；冰乙酸(优级纯)；无水硫酸钠(分析纯)，650 ℃灼烧 4 h后，置于干燥器中备用；实验用水为 Milli-Q高纯水(美国 Millipore公司)；Sep-Pak Carbon NH$_2$固相萃取柱(6 mL，1 g)、Sep-Pak Alumina N固相萃取柱(12 mL，2 g，美国 Waters公司)；ENVI™-18固相萃取柱(12 mL，2 g，美国 SUPELCO公司)；农药标准物质(纯度不小于 95%，美国 LGC Promochem GmbH公司)。

1.2 标准溶液的配制

标准储备溶液：分别称取 5~10 mg(精确至 0.1 mg)农药标准品于 10 mL容量瓶中，根据标准物的溶解性选丙酮、甲醇、乙腈等溶剂溶解并定容至刻度。

标准混合溶液：根据每种农药标准品在仪器上的响应灵敏度，确定其在混合标准溶液中的浓度。将 111种农药分为 A组和 B组分别检测，农药名称见表 1。依据各农药标准品的标准混合溶液浓度及其标准储备液的浓度，移取一定量的标准储备溶液于 50 mL容量瓶中，用甲醇定容至刻度。

1.3 样品处理

提取：称取 5 g试样于 50 mL离心管中，加入 10 g无水硫酸钠和 35 mL乙腈，均质提取 1 min，4 200 r/min离心 5 min。上清液通过装有无水硫酸钠的筒形漏斗，收集于 100 mL鸡心瓶中，残渣再用 35 mL乙腈重复提取 1次，经离心过滤后，合并二次提取液，于 45 ℃水浴旋转蒸发至约 1 mL，加入 5 mL环己烷-乙酸乙酯(体积比 1∶1)进行溶剂交换 2次，旋转蒸发至约 1 mL，待净化。

凝胶渗透色谱净化：将浓缩液转移至 10 mL容量瓶中，再用 8 mL环己烷-乙酸乙酯(1∶1)分 3次洗涤鸡心瓶，洗涤液转移至容量瓶中，定容至刻度，摇匀。经 0.45 μm滤膜过滤到 10 mL试管中，用凝胶渗透色谱仪净化，收集 24~48 min的馏分，在 40 ℃水浴中旋转浓缩至约 0.5 mL，氮气吹干，1 mL乙腈-水(体积比 3∶2)溶解残渣，过 0.2 μm微孔滤膜后，供液相色谱-串联质谱测定。

1.4 分析方法

1.4.1 液相色谱条件 色谱柱：Atlantis T3(150 mm×2.1 mm i.d，3 μm)；柱温：35 ℃；流动相：0.1%甲酸水(A)和乙腈(B)；流速：0.2 mL/min；进样量：20 μL。梯度洗脱条件：0~4 min，90%~50% A，4~15 min，50%~40% A，15~23 min，40%~20% A，23~30 min，20%~5% A，30~35 min保持 5% A，35~35.01 min，5%~90% A，35.01~50 min，保持 90% A。

1.4.2 质谱条件 离子源：电喷雾离子源；扫描方式：正离子扫描；检测方式：多反应检测；电喷

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

雾电压: 5 500 V; 雾化气压力: 0.076 MPa; 气帘气压力: 0.069 MPa; 辅助气流速: 6 L/min; 离子源温度: 350 ℃; 监测离子对、碰撞气能量、去簇电压和碰撞室出口电压见表 1。

1.4.3 凝胶渗透色谱条件 凝胶色谱柱: 内装 BIO-Beads S-X3 填料, 360 mm × 25 mm; 检测波长: 254 nm; 流动相: 环己烷-乙酸乙酯 (1∶1); 流速: 4.7 mL/min; 进样量: 5 mL; 开始收集时间: 24 min; 结束收集时间: 48 min。

表 1　111种农药的保留时间 (t_R)、多反应检测离子对、去簇电压、碰撞气能量、碰撞室出口电压、检出限、定量下限与线性范围

Table 1　Retention time (t_R), MRM transitions for precursor/product ion, declustering potential, collision energy, collision cell exit potential, LOD, LOQ and linear range of 111 pesticides

No	Pesticide	t_R/min	Precursor/product ions	Declustering potential U/V	Collision energy U/V	Collision cell exit potential U/V	LOD w/(μg·kg⁻¹)	LOQ w/(μg·kg⁻¹)	Linear range w/(μg·kg⁻¹)
				A					
1	Pirimicarb	9.4	239.2/72.0*, 239.2/182.2	36	35, 22	2, 2	0.2	0.5	0.18~3.57
2	Ethidimuron	10.0	265.1/208.1*, 265.1/162.1	50	17, 30	3, 3	3.0	7.5	7.48~59.80
3	Imidacloprid	10.2	256.1/175.1*, 256.1/209.1	25	26, 24	6, 5	4.4	10.9	8.74~436.80
4	Secbumeton	10.4	226.2/170.1*, 226.2/142.1	28	25, 32	6, 6	0.2	0.4	0.17~8.56
5	Thiacloprid	11.2	253.1/126.1*, 253.1/186.1	52	27, 18	2.5, 2.5	1.5	3.8	3.80~30.47
6	Carbetamide	11.3	237.1/192.1*, 237.1/118.1	18	11, 18	2, 4	3.7	9.2	7.36~73.60
7	Methoprotryne	11.7	272.2/198.2*, 272.2/170.1	42	30, 24	6, 5	0.3	0.6	0.25~5.00
8	Paraoxonmethyl	11.9	248.0/202.1*, 248.0/90	37	25, 35	2, 2	7.3	18.3	7.33~146.52
9	Cyanazine	12.2	241.1/214.1*, 241.1/104	33	22, 44	2, 2	2.1	5.3	2.11~42.12
10	Fenthionsulfoxide	12.6	295.1/280.0*, 295.1/127	37	23, 40	5, 2	0.6	1.6	1.60~31.92
11	Cycluron	13.3	199.2/89.0*, 199.2/72.0	43	20, 30	2, 2	0.3	0.8	0.74~5.90
12	Prometryne	13.4	242.2/158.1*, 242.2/200.2	48	33, 25	2, 2	0.2	0.5	0.19~3.78
13	Carbaryl	13.5	202.1/145.1*, 202.1/127.1	20	15, 40	2, 2	4.2	10.4	10.37~82.96
14	Monolinuron	14.1	215.1/126.0*, 215.1/148.1	31	25, 20	3, 2	1.4	3.6	1.43~71.42
15	Isoprocarb	14.7	194.1/95.0*, 194.1/137.1	27	25, 13	2, 3	0.9	2.3	0.92~45.92
16	3,4,5-Trimethacarb	14.7	194.2/137.2*, 194.2/122.2	18	16, 37	2, 4	0.4	0.9	0.35~7.04
17	Propachlor	15.2	212.1/170.1*, 212.1/94.1	31	19, 38	2, 2	0.3	0.7	0.27~5.37
18	Propham	15.4	180.1/138.0*, 180.1/120	23	13, 22	4, 3	110.0	275.0	110.09~2 201.80
19	Buturon	15.7	237.1/84.1*, 237.1/126.1	39	24, 40	2, 2	3.6	9.0	9.00~180.20
20	Clomazonedimethazone	15.7	240.1/125.0*, 240.1/89.1	39	28, 61	3, 2	0.8	1.9	1.88~37.70
21	Triadimenol	16.0	296.1/70.0*, 296.1/99.1	22	30, 21	3, 3	4.2	10.6	4.22~210.80
22	Cyprodinil	16.1	226.2/93.0*, 226.2/118	56	52, 46	2, 2	4.0	10.1	4.03~80.64
23	Paclobutrazol	16.1	294.2/70.0*, 294.2/125	34	49, 50	2, 4	1.1	2.9	2.27~113.66
24	Benodanil	16.1	324.1/231.0*, 324.1/203	50	30, 47	6, 2	1.4	3.6	3.54~28.34
25	Desmedipham	16.7	301.2/182.1*, 301.2/136.1	27	12, 31	2, 2	23.8	59.6	59.60~476.72
26	Methidathion	17.2	303.0/145.1*, 303.0/85	18	12, 29	4, 2	4.2	10.6	10.58~84.67
27	Fenarimol	17.3	331.0/268.1*, 331.0/259.1	43	30, 31	9, 3	2.4	6.0	6.00~119.85
28	Dimethenamid	17.8	276.1/244.1*, 276.1/168.1	22	25, 22	2, 2	1.7	4.3	4.25~33.98
29	Myclobutanil	17.9	289.1/70.0*, 289.1/125	33	38, 45	2, 2	1.0	2.5	0.99~19.87
30	Aziprotryne	18.1	226.1/156.1*, 226.1/198.1	20	19, 13	3, 2	1.4	3.5	1.38~11.04
31	Etaconazole	18.1	328.1/159.1*, 328.1/205.1	48	42, 20	2, 2	0.7	1.8	1.78~35.38
32	Isoxaflutole	18.1	360.0/251.1*, 360.0/220.1	38	22, 51	2, 2	3.9	9.7	3.87~77.38
33	Tepraloxydim	19.0	342.2/250.2*, 342.2/166.1	32	19, 31	3, 2	4.9	12.3	12.25~97.92
34	Diclobutrazole	19.3	328.0/70.0*, 328.0/159	35	60, 54	2, 2	0.5	1.2	0.94~9.39

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

(续表 1)

No	Pesticide	t_R /min	Precursor/product ions	Declustering potential U/V	Collision energy U/V	Collision cell exit potential U/V	LOD w/(μg·kg⁻¹)	LOQ w/(μg·kg⁻¹)	Linear range w/(μg·kg⁻¹)
35	Flusilazole	19.6	316.1/247.1*, 316.1/165.1	31	23, 40	8, 5	0.6	1.4	0.57~11.45
36	Penconazole	20.1	284.1/159.0*, 284.1/70	35	38, 37	2, 2	2.0	5.0	2.01~40.12
37	Bitertanol	20.3	338.2/269.2*, 338.2/99.1	38	12, 21	4, 3	13.4	33.5	33.45~267.70
38	Flutolanil	21.1	324.2/262.1*, 324.2/282.1	30	25, 17	3, 3	1.1	2.9	1.14~22.88
39	Azinphosethyl	21.9	346.0/261.1*, 346.0/233	19	12, 18	4, 5	43.5	108.6	108.55~868.48
40	Isomethiozin	22.8	269.1/200.0*, 269.1/172.1	33	20, 30	2, 3	1.1	2.7	0.43~21.43
41	Benalaxyl	23.4	326.2/208.2*, 326.2/148.1	28	20, 32	6, 3	0.5	1.2	1.23~9.86
42	Anilofos	24.3	368.0/199.0*, 368.0/125	27	20, 45	3, 3	86.0	214.5	214.38~3 429.82
43	Clodinafoppropargyl	24.6	350.1/266.1*, 350.1/238.1	36	21, 32	4, 2	0.2	0.4	0.86~3.45
44	Bensulide	24.7	398.0/314.0*, 398.0/158.1	21	14, 33	5, 2	6.8	17.1	34.20~273.60
45	Diazinon	24.9	305.1/169.1*, 305.1/153.2	31	30, 29	2, 2	0.7	1.8	0.70~13.97
46	Tolclofosmethyl	26.0	301.2/175.1*, 301.2/125.2	33	35, 25	7, 4	26.5	66.3	66.30~530.40
47	Haloxyfopmethyl	26.7	376.0/316.0*, 376.0/288	45	24, 35	5, 2	2.6	6.5	2.60~52.08
48	4,4-Dichlorobenzophenone	26.8	251.1/139.0*, 251.1/111.1	32	25, 52	2, 4	49.5	124.0	99.20~4 960.00
49	Indoxacarb	27.0	528.0/249.0*, 528.0/218	45	24, 32	4, 2	3.0	7.6	7.60~151.90
50	Cloquintocetmexyl	27.1	336.1/238.1*, 336.1/192.1	29	21, 39	3, 3	0.2	0.4	0.17~1.35
51	Quizalofopethyl	27.5	373.0/299.1*, 373.0/271	50	25, 35	2, 2	0.7	1.7	0.69~13.80
52	Tetramethrin	28.8	332.2/164.1*, 332.2/135.1	18	30, 23	2, 2	1.8	4.6	1.82~36.34
53	Allethrin	29.3	303.2/135.1*, 303.2/123.2	40	15, 19	2, 2	60.5	151.0	60.45~483.60
54	Butralin	31.1	296.1/240.1*, 296.1/222.1	20	19, 30	4, 4	1.9	4.8	1.90~38.02
55	Phthalicacid dicyclohexylester	32.8	331.2/167.0*, 331.2/149.1	20	18, 36	2, 2	47.5	118.8	118.80~1 900.95
56	Bromophosethyl	32.8	393.0/337.0*, 393.0/162.1	35	25, 52	3, 2	568.4	1 421.0	568.40~11 368.00
			B						
57	Acephate	2.4	184.1/143.0*, 184.1/113	15	11, 30	2, 2	13.5	33.7	13.47~107.74
58	Thiamethoxam	9.5	292.1/211.2*, 292.1/181.1	26	16, 28	3, 3	6.6	16.5	13.19~263.87
59	Crimidine	10.1	172.1/136.2*, 172.1/107.1	37	27, 30	4, 5	1.6	3.9	0.63~12.51
60	Clothianidin	10.1	250.2/132.0*, 250.2/169.1	35	26, 19	3, 3	78.5	196.0	196.00~1 568.00
61	Fenuron	10.3	165.1/72.0*, 165.1/120	31	31, 24	2, 2	2.1	5.2	5.15~41.20
62	Tepp	11.4	291.1/179.0*, 291.1/207	23	30, 20	2, 2	21.2	53.0	53.00~424.00
63	Phosphamidon	11.5	300.1/127.0*, 300.1/174.1	27	31, 18	2, 3	0.8	2.0	0.78~31.01
64	Mephosfolan	11.8	270.1/140.1*, 270.1/168.1	40	36, 26	2, 5	0.9	2.3	2.33~46.46
65	Isouron	12.1	212.2/72.0*, 212.2/167.1	28	40, 22	2, 3	0.8	1.9	1.88~15.05
66	Cythioate	12.6	298.0/125.0*, 298.0/217.1	58	33, 24	2, 5	96.0	240.0	240.00~4 800.00
67	Propoxur	13.1	210.1/168.1*, 210.1/111	21	10, 21	4, 4	9.7	24.3	24.33~486.64
68	Bendiocarb	13.2	224.1/167.1*, 224.1/109	20	12, 25	5, 3	1.3	3.2	3.20~25.50
69	Flutriafol	13.4	302.1/123.0*, 302.1/109	33	41, 49	2, 3	1.7	4.3	1.71~171.12
70	Chlorotoluron	13.5	213.1/72.0*, 213.1/140.1	29	38, 33	3, 3	1.2	3.0	2.98~23.77
71	Mefenoxam	14.2	280.1/220.0*, 280.1/192.1	40	18, 24	2, 2	0.6	1.6	1.55~12.38
72	Diuron	14.3	233.1/72.0*, 233.1/160.1	32	39, 35	3, 2	2.7	6.8	6.83~136.62
73	Methobromuron	15.0	259.0/170.1*, 259/148	32	25, 19	4, 2	6.8	16.9	16.88~337.68

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

(续表 1)

No	Pesticide	t_R /min	Precursor/product ions	Declustering potential U/V	Collision energy U/V	Collision cell exit potential U/V	LOD w/(μg·kg⁻¹)	LOQ w/(μg·kg⁻¹)	Linear range w/(μg·kg⁻¹)
74	Dimethachloro	15.7	256.1/224.2*, 256.1/148.2	27	18, 35	4, 2	0.8	1.9	1.90~37.85
75	Disulfotonsulfone	16.4	307.0/97.0*, 307/115	28	56, 43	2, 3	2.5	6.2	2.47~19.75
76	Propazine	16.5	230.1/188.1*, 230.1/146.1	40	23, 30	2, 6	1.2	3.1	1.22~24.41
77	Phenmedipham	16.8	301.1/168.1*, 301.1/136	30	11, 27	6, 3	11.8	29.5	29.53~236.21
78	Cyproconazole	16.9	292.1/70.0*, 292.1/125	38	45, 42	2, 4	1.3	3.3	3.30~65.91
79	Terbuthylazine	17.2	230.1/174.1*, 230.1/110	34	21, 42	2, 2	0.8	2.1	2.05~16.31
80	Furalaxyl	17.2	302.2/242.2*, 302.2/270.2	31	21, 15	4, 4	0.3	0.8	0.78~6.22
81	Flurtamone	17.3	334.1/247.1*, 334.1/105.1	55	37, 45	3, 2	0.5	1.1	0.18~3.58
82	Bromuconazole	17.8	376.0/159.0*, 376/173	37	38, 42	2, 2	3.0	7.5	5.98~119.51
83	Crufomate	18.2	292.1/236.0*, 292.1/108.1	46	24, 40	4, 4	1.1	2.7	2.65~53.20
84	Molinate	18.7	188.1/126.1*, 188.1/98.1	25	19, 26	2, 3	2.1	5.3	2.11~16.90
85	Chlorbufam	19.0	224.1/172.1*, 224.1/154.1	16	12, 24	3, 5	183.4	458.5	183.38~1 467.04
86	Pronamide	19.3	256.1/190.1*, 256.1/173	40	20, 28	2, 7	3.1	7.7	6.14~122.72
87	Isoxaben	19.9	333.1/165.0*, 333.1/150.1	43	29, 55	2, 2	0.4	1.1	1.05~21.12
88	Ethofumesate	20.0	287.0/259.0*, 287/121	50	15, 22	2, 2	208.0	520.0	208.00~1 664.00
89	Flamprop-methyl	20.2	336.1/77.0*, 336.1/105.1	22	73, 25	3, 2	4.0	10.1	8.08~161.57
90	Iprobenfos	20.7	289.1/205.1*, 289.1/91	20	12, 39	2, 3	3.4	8.4	8.42~67.39
91	Metconazole	20.9	320.2/70.0*, 320.2/125	37	50, 55	2, 2	1.3	3.3	1.33~26.62
92	Tetrachlorvinphos	21.1	365.0/127.0*, 365/204	32	18, 51	5, 8	2.2	5.6	2.22~44.35
93	Triazophos	21.2	314.1/162.1*, 314.1/119.1	42	27, 48	4, 4	0.7	1.8	0.71~5.68
94	Propiconazole	21.5	342.1/159.1*, 342.1/205.1	52	38, 20	6, 2	1.8	4.4	1.77~35.33
95	Neburon	22.2	275.1/88.1*, 275.1/160.1	33	23, 41	2, 2	2.8	7.1	7.08~56.64
96	Chlormephos	23.0	235.0/153.0*, 235/125	27	15, 20	5, 2	960.0	2 400.0	960.00~19 200.00
97	Aclonifen	23.0	265.1/248.0*, 265.1/182.1	43	25, 40	4, 2	24.1	60.3	24.11~482.24
98	Fluthiacet-methyl	23.0	404.0/274.0*, 404/215	64	40, 55	2, 2	5.2	13.1	5.23~104.64
99	Buprofezin	24.2	306.2/116.1*, 306.2/106.1	18	21, 41	2, 3	8.9	22.2	8.89~177.84
100	Etrimfos	24.7	293.1/125.0*, 293.1/265.1	29	35, 21	2, 4	34.0	85.0	34.00~1 360.00
101	Flamprop-isopropyl	25.1	364.1/105.1*, 364.1/304.1	22	33, 13	2, 5	0.4	1.1	0.44~3.53
102	Pirimiphos-methyl	25.3	306.2/108.1*, 306.2/95	42	42, 50	3, 3	0.2	0.5	0.18~1.47
103	Cyanofenphos	25.7	304.0/157.0*, 304/276	38	30, 16	2, 2	8.4	20.9	20.93~167.33
104	Trifloxystrobin	27.7	409.3/206.2*, 409.3/186.1	35	18, 25	3, 3	2.4	6.0	4.75~95.04
105	Picolinafen	28.5	377.0/238.0*, 377/145	56	35, 69	8, 6	1.4	3.6	1.43~5.73
106	Bioallethrin	29.5	303.1/135.1*, 303.1/123.1	35	20, 25	2, 2	79.3	198.2	198.23~1 585.76
107	Pyriproxyfen	29.5	322.1/96.0*, 322.1/227.1	25	25, 18	2, 3	0.4	1.1	0.44~3.49
108	Fenazaquin	30.0	307.2/161.2*, 307.2/147.1	37	24, 29	2, 2	0.3	0.8	0.66~6.60
109	Chlorpyrifos	30.3	350.0/97.0*, 350/198	31	46, 28	2, 3	21.6	54.1	21.62~432.48
110	Propargite	31.6	368.1/175.1*, 368.1/81	33	23, 46	2, 2	27.4	68.4	68.38~547.04
111	Bioresmethrin	33.8	339.2/171.1*, 339.2/143.1	33	21, 35	2, 2	7.5	18.8	7.50~150.00

* quantitative ions

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

2 结果与讨论

2.1 提取试剂的选择

考察了正己烷、正己烷－丙酮(体积比 1∶1、3∶1)、正己烷－二氯甲烷(体积比 4∶1)、环己烷－乙酸乙酯(1∶1)、乙腈、1%醋酸乙腈 7种试剂对 154种目标化合物的提取效果(n = 3)，结果表明，乙腈的提取效果最好。用乙腈提取时，平均回收率为 60%～120%的有 108种，占所测总数的 70.1%；相对标准偏差小于 20%的有 124种，占所测总数的 80.5%。7种提取溶剂的提取效率，从高到低依次为乙腈、1%醋酸乙腈、正己烷－丙酮(1∶1)、环己烷－乙酸乙酯、正己烷－丙酮(3∶1)、正己烷－二氯甲烷、正己烷。实验发现，1%醋酸乙腈为提取溶剂时，农药回收率普遍偏高；正己烷、正己烷－二氯甲烷、正己烷－丙酮(3∶1)为提取溶剂时，较多农药的回收率偏低。相对标准偏差小于 20%的农药种类从多到少依次为乙腈、环己烷－乙酸乙酯、正己烷－丙酮(3∶1)、1%醋酸乙腈、正己烷、正己烷－丙酮(1∶1)、正己烷－二氯甲烷。此外，乙腈对极性和非极性目标化合物均具有较好的溶解性及较高的提取效率，且提取的脂肪量最少，有利于净化。综上所述，本实验选择乙腈作为提取剂。

2.2 提取方式的选择

目前常用的提取方式有加速溶剂提取(ASE)、均质提取、振荡提取等，实验比较了 3种提取方式对 154种农药的提取效果(n = 3)。结果表明，均质提取时，平均回收率为 60%～120%的目标化合物数量最多，有 118种，占所测总数的 76.6%；而采用 ASE提取和振荡提取时，回收率为 60%～120%的目标化合物数量分别为 105种和 102种，占所测总数的 68.2%和 66.2%，提取效果均差于均质提取方式；比较 3种提取方式的相对标准偏差(RSD小于 20%)，均质提取方式也明显好于 ASE提取和振荡提取方式。因此，本方法选用均质提取方式。

2.3 净化方式的选择

比较了固相萃取小柱(SPE)和凝胶渗透色谱净化方式对 154种农药的净化效果，其中 SPE柱净化选择 2种方式(n= 3)：①提取液旋转蒸发后过 Alumina N柱，10 mL乙腈洗脱，洗脱液浓缩后用 3×2 mL乙腈－甲苯(体积比 3∶1)转移再过 NH_2-Carb串联柱，然后用 25 mL乙腈－甲苯(3∶1)洗脱，洗脱液于 45 ℃水浴旋转蒸发至约 0.5 mL，氮气吹干，1 mL乙腈－水(3∶2)溶解残渣，0.2 μm微孔滤膜过滤，液相色谱－串联质谱检测。②提取液旋转蒸发后过 ENVI™-18固相萃取柱，10 mL乙腈洗脱，洗脱液浓缩后用 3×2 mL乙腈－甲苯(3∶1)转移再过 NH_2-Carb串联柱，然后用 25 mL乙腈－甲苯(3∶1)洗脱，洗脱液于 45 ℃水浴旋转蒸发至约 0.5 mL，氮气吹干，1 mL乙腈－水(3∶2)溶解残渣，0.2 μm微孔滤膜过滤，液相色谱－串联质谱检测。目标化合物经 GPC净化，平均回收率为 60%～120%的有 105种，占所测总数的 68.2%，而 Alumina N+ NH_2-Carb柱和 C_{18} + NH_2-Carb柱净化的平均回收率均较低，平均回收率为 60%～120%的农药数量分别占所测总数的 49.4%和 62.3%；对比 3种净化方式的相对标准偏差(RSD小于 20%)，GPC净化的相对标准偏差小于 20%的有 124种，占所测总数的 80.5%，而 SPE柱净化的相对标准偏差小于 20%的分别占所测总数的 63.0%和 70.1%。而且使用固相萃取柱净化时，样液仍有少量油脂存在，容易造成色谱柱和离子源污染。GPC分离技术是目前除去大分子比较理想的方法，因此，本实验选择 GPC净化方式。

2.4 农药的筛选

对 154种农药进行了 3个添加水平的回收率实验，其中有 43种农药不适用本方法。如在 GPC净化阶段出峰时间较早，致使回收率小于 40%的农药有 18种，分别为燕麦敌、丙森锌、多菌灵、氯嘧磺隆、环酰菌胺、吡氟禾草灵、氯乙氟灵、氟虫脲、氟铃脲、氟蚁腙、达草灭、螺 茂胺、特草灵、杀虫隆、氟乐灵、噻草酮、乙撑硫脲、比久；此外还有 25种农药的 GPC出峰时间在收集时间内，但经过前处理后回收率小于 40%或未检出，如溴苯烯磷、甲基毒死蜱、发硫磷、乙草胺、腈嘧菌酯、烯草酮、棉隆、乙基硫菌灵、乙基托布津、醚苯磺隆、莠锈灵、氟啶蜱脲、伐灭磷、久效威、6-氯-4羟基-4-苯基哒嗪、绿黄隆、灭蝇胺、野燕枯、咪唑乙烟酸、烟碱、烯啶虫胺、杀虫磺、抑菌灵、杀鼠醚、甲氨基阿维菌素苯甲酸盐。因此，本方法适用于如表 1所示 111种农药的定量分析。

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

2.5 线性范围、检出限与定量下限

对 111种农药进行测定，外标法定量，结果表明，在线性范围内农药的质量浓度与响应值均呈良好的线性关系，相关系数为 0.984 5～0.999 9，其中 108种农药的相关系数在 0.99以上，占总数的 97.3%。111种农药的检出限为 0.20～960 μg/kg，检出限在 10 μg/kg以下的有 88种，占总数的 79.3%，方法定量下限(LOQ)为 0.40～2 400 μg/kg，具体数据见表 1。

2.6 方法的回收率与精密度

在猪、鸡、牛、羊脂肪样品中添加 1倍 LOQ、2倍 LOQ和 4倍 LOQ 3个水平的混合标准溶液进行回收率和精密度实验(n = 6)，结果表明，3个水平的加标回收率为 60%～120%，相对标准偏差为 0.6%～19.8%，说明方法具有较好的重复性。

2.7 实际样品分析

对超市购买的猪、鸡、牛、羊脂肪应用本方法进行分析，在猪脂肪中检出炔草酯、环莠隆、绿谷隆、氯苯嘧啶醇、甲萘威、杀扑磷、甜菜胺、莎稗磷等农药残留，其含量分别为 0.2、2.1、20.3、20.7、22.0、32.3、253.6、675.6 μg/kg，羊脂肪中检出扑灭津残留含量为 1.3 μg/kg，鸡和牛脂肪中均未检出农药残留。

参考文献：

[1] 潘佑找，储春荣．化学农药对农产品的污染刍议[J]．现代农业科技，2007，(22)：95－97.

[2] 单正军，陈祖义．农产品农药污染途径分析[J]．农药科学与管理，2008，29(3)：40－49.

[3] 廖新福，谭慧林，张志东．农药残留对农产品的污染及控制对策[J]．农产品加工·学刊，2006，(2)：78－80

[4] 吴岩，康庆贺，高凯扬，等．固相萃取－在线凝胶渗透色谱－气相色谱－质谱法测定板栗中 44种有机磷农药残留[J]．分析化学，2009，37(5)：753－757.

[5] 康庆贺，吴岩，高凯扬，等．固相萃取－在线凝胶渗透色谱－气相色谱/质谱法测定松子仁中的 28种有机氯农药和拟除虫菊酯农药[J]．色谱，2009，27(2)：181－185.

[6] 胡贝贞，宋伟华，谢丽萍，等．加速溶剂萃取/凝胶渗透色谱－固相萃取净化/气相色谱－质谱法测定茶叶中残留的 33种农药[J]．色谱，2008，26(1)：22－28.

[7] 邵兵，韩灏，李冬梅，等．加速溶剂萃取－液相色谱－质谱/质谱法分析动物组织中的壬基酚、辛基酚和双酚 A[J]．色谱，2005，23(4)：362－365

[8] 王云凤，常春艳，陈其勇，等．凝胶渗透色谱和气相色谱－质谱法测定动物食品中 27种有机氯和 15种拟除虫菊酯类农药残留量[J]．分析测试学报，2007，26(z)：253－256.

[9] 于胜良，杨桂朋，付萌．凝胶渗透色谱净化－气相色谱/串联质谱分析蘑菇中的 36种农药残留[J]．色谱，2007，25(4)：581－585.

[10] LEHOTAY S J, MAŠTOVSKÁ K. Evaluation of two fast and easy methods for pesticide residue analysis in fatty food matrixes[J]. J AOAC Int, 2005, 88(2): 630－638.

[11] SMEDS A, SAUKKO P. Identification and quantification of polychlorinated biphenyls and some endocrine disrupting pesticides in human adipose tissue from Finland[J]. Chemosphere, 2001, 44: 1463－1471.

[12] SAITO K, SJÖDIN A, SANDAU C D, et al. Development of a accelerated solvent extraction and gel permeation chromatography analytical method for measuring persistent organohalogen compounds in adipose and organ tissue analysis[J]. Chemosphere, 2004, 57: 373－381.

[13] SCHÄFER K. Accelerated solvent extraction of lipids for determining the fatty acid composition of biological material[J]. Anal Chim Acta, 1998, 358: 69－77.

[14] 张伟国，高金山，陈姗姗，等．凝胶渗透色谱－气相色谱－质谱测定玉米中 3种农药的残留[J]．分析化学，2005，33(10)：1442－1444

[15] KAJIHARA A, YOSHIIK, TSUMURA Y, et al. Multiresidue analysis of pesticides in fresh fruits and vegetables by supercritical fluid extraction and HPLC[J]. J Health Sci, 2000, 46(5): 336－342.

[16] 曾凡刚．凝胶渗透色谱净化：气相色谱法测定牛奶中 10种有机氯农药残留[J]．中国乳品工业，2006，34(5)：52－61.

[17] PANG Guofang, CAO Yanzhong, FAN Chunlin, et al. Analysis method study on 839 pesticide and chemical contaminant multiresidues in animal muscles by gel permeation chromatography cleanup, GC/MS, and LC/MS/MS[J]. J AOAC Int, 2009, 92(3): 933－940.

[18] PANG Guofang, CAO Yanzhong, ZHANG Jinjie, et al. Validation study on 660 pesticide residues in animal tissues by gel permeation chromatography cleanup/gas chromatography－mass spectrometry and liquid chromatography－tandem mass spectrometry[J]. J Chromatogr A, 2006, 1125(1): 1－30.

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net