



摘 要

目前我国使用量最大的农药是有机磷农药, 此类农药能有效地控制害虫、杂草及细菌的生长, 提高农业产量, 但它属于高毒性农药, 大量使用会造成许多潜在的危害, 影响人体健康甚至给后代带来很多潜在的危险。为预防和处理有机磷农药引起的危害, 及时、准确的检测方法显得尤为必要。传统检测农药残留的手段主要有气相色谱法、薄层色谱法、气相色谱-质谱联用法、高效液相色谱法、免疫学方法与生物芯片技术等。上述方法存在样品前处理过程繁琐、消耗试剂、耗时长等缺点, 很难实现快速、有效的检测。而荧光分析法是根据荧光探针染料与生物大分子结合后的荧光特性、动力学特征、电化学特征和自聚特征等建立了科学的分析方法, 它具有灵敏度高、试剂用量少、方法简便等优点, 在环境监测等领域显示出其独特的优越性。荧光探针技术具有高度的灵敏性和极宽的动态响应范围, 因此, 进一步建立高灵敏度、低检测限的荧光探针对定量测定有机磷残留的方法具有重要意义。

本论文主要包括以下两个方面的内容:

1. 概述了荧光分析法的基本原理、有机磷化学基础, 综述了有机磷农药残留分析的一些方法及其应用, 引用文献135篇。

2. 探索了几种荧光法测定有机磷残留的新方法:(1) 在pH 6.20的 $\text{KH}_2\text{PO}_4\text{—Na}_2\text{HPO}_4$ 缓冲溶液中, 吖啶橙(AO)与一定浓度的十二烷基苯磺酸(SDBS)发生荧光增强反应, 当在该体系中加入有机磷农药后, 在 $\lambda_{\text{ex}}=494\text{ nm}$ 处荧光强度明显下降, 其降低程度与有机磷农药的加入量呈良好的线性关系, 线性范围和检出限分别为0.020~0.28 mg/L、

0.020mg/L。据此建立了测定有机磷农药残留总量的新方法。该方法用于大米和土壤中有机磷农药残留总量的检测, 回收率为92.1~96.8%, R.S.D在2.8~4.3%之间, 结果满意。

(2) 在pH为6.0的 $\text{KH}_2\text{PO}_4\text{—Na}_2\text{HPO}_4$ 缓冲溶液中, 一定浓度的溴化十六烷基三甲基铵(CTMAB)与曙红(Y)反应, 使其荧光强度剧增, 当在Y-CTMAB中加入有机磷农药后, 溶液在激发波长316nm, 发射波长550nm处体系的荧光强度明显降低, 且降低程度与有机磷农药的加入量呈良好的线性关系, 据此建立了测定有机磷农药残留总量的新方法。

(3) 在PH为4.60的B-R缓冲溶液中, 中性红(NR)与一定浓度的十二烷基苯磺酸钠(SDBS)发生荧光增强反应, 在该体系中加入有机磷农药后, 在激发波长560nm, 发射波长604nm

处体系的荧光强度明显降低,且降低程度与有机磷农药的加入量呈良好的线性关系,其线性范围和检出限分别为0.024~0.40mg/L, 0.014mg/L。据此建立了测定有机磷农药残留总量的新方法。该方法已用于面粉和土壤中有机磷农药残留总量的检测,回收率在92.0~100.5%之间,相对标准偏差在1.08~1.81%之间,结果满意。④在pH 6.6的Sørensen缓冲溶液中,达旦黄(TY)与一定浓度的吐温-80发生荧光增强反应,当在该体系中加入辛硫磷农药后,在 $\lambda_{em}=460$ nm处荧光强度明显降低,且降低程度与辛硫磷的加入量呈良好的线性关系,线性范围和检出限分别是0~0.72 mg/L, 0.031mg/L。据此建立了测定辛硫磷残留量的新方法。

3. 开展有机磷农药与荧光探针相互作用机理研究。研究了染料、染料—有机磷农药、染料—表面活性剂、染料—表面活性剂—有机磷农药的荧光光谱和紫外光谱,并对其相互作用机理进行初步探讨。

关键词: 有机磷农药残留, 荧光探针技术, 表面活性剂, 染料

ABSTRACT

At present, organic phosphorus pesticide were pesticides of the biggest consumption of our country. The organic phosphorus pesticide pesticides have strong toxicity, it will cause a lot of potential danger if used in a large amount. For example, it will influence the human body health seriously, will even bring potential danger to offspring. Pesticide is used on the crops, will advance the output of the crops, and kill the weeds, the pests and the bacterium. So, one of the preventive measures in the case is to fast and accurately determine the organic phosphorus pesticide.

The traditional detection methods of residues of pesticides were reported: gaseous phase chromatograms, thin layer chromatograms, Chromatogram of high-efficient liquid phase, immunoassay and biological chip etc. But some shortcomings exist in the pretreatment of the samples, such as tediousness and reagent-consuming, time-consuming. They are unable to satisfy fast and accurately determine. Compared with them, the fluorescent analytic method has some advantage: high sensitivity, few reagent, simpleness and convenience, and demonstrates its unique superiority in the field of environmental monitoring.

After the fluorescence probe dyestuffs and biological macromolecule are combined, it will take on some characteristics: fluorescence characteristic, dynamics characteristic, electrochemical characteristic and gathering characteristic, etc. Based on this theory, fluorescence analytical method is acquired. The greatest strongpoint of the fluorescence probe technology is its high-level sensitivity and extremely wide dynamic response range, so it is significant to further achieve fluorescence analytical method of quantitatively determine the residual method of organic phosphorus, it will possess higher sensitivity, lower detection limit.

This thesis mainly includes the content of two following respects:

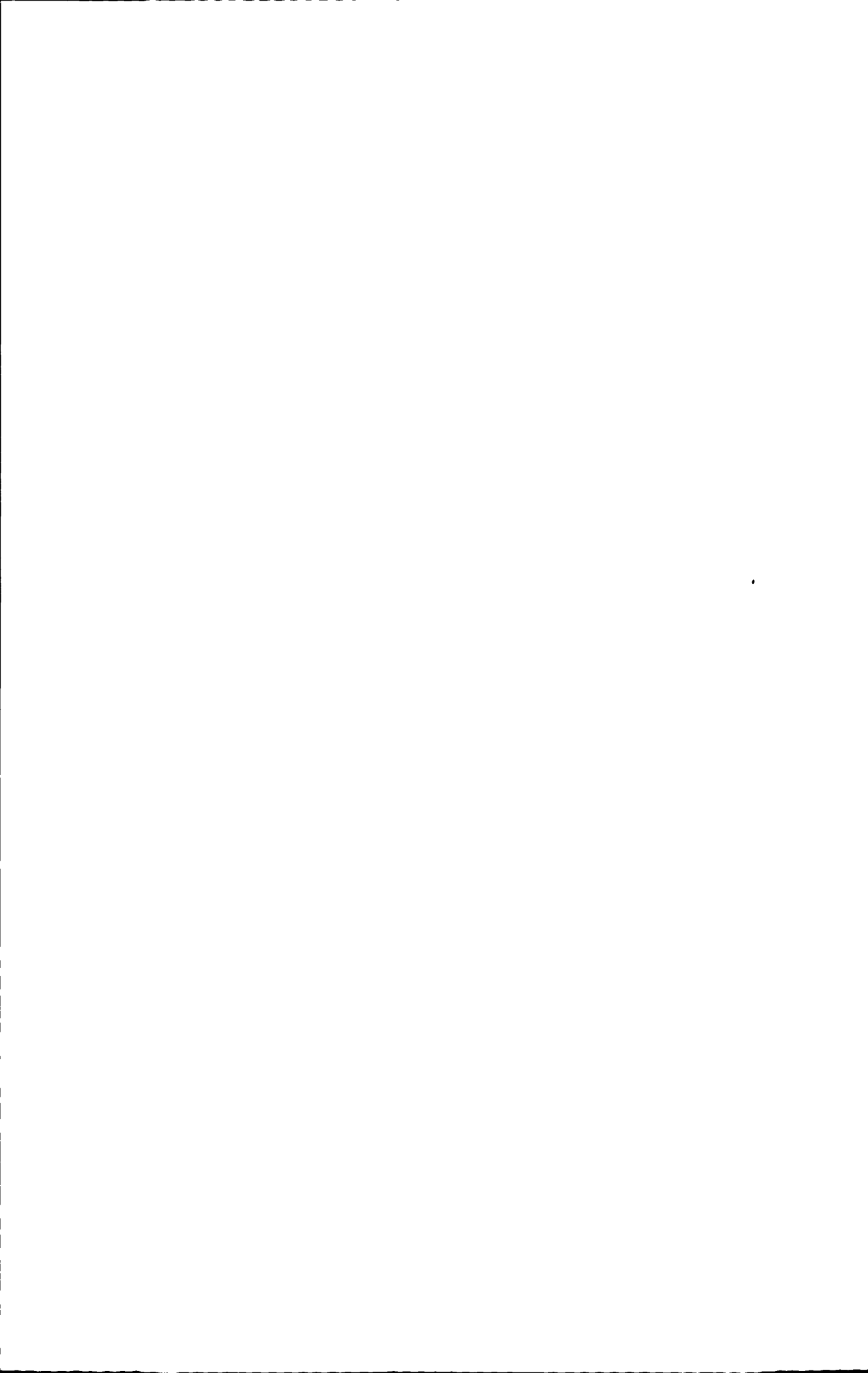
1. In this paper, the basic principle of the fluorescence analytic approach and the chemical foundation of organic phosphorus were summed up, organic phosphorus pesticide residue analysis some methods and the application were reviewed in details: 135 references were cited in this paper.

2. Several kinds of new fluorescence methods in determining the residuals of organic phosphorus have explored: (1) In a pH 6.2 medium of $\text{KH}_2\text{PO}_4\text{-Na}_2\text{HPO}_4$, the fluorescence intensity of Acridine Orange (AO) is enhanced violently when a certain concentration of the Dodecylbenzene Sulfonic Acid Sodiumsalt (SDBS) is added. The enhanced fluorescence intensity is declined obviously after adding organophosphorus pesticides and the reduced fluorescence intensity is proportional to the concentration of organophosphorus pesticides. The linear range of this assay is 0.02 ~ 0.28 mg/L and with a detection limit of 0.02 mg/L. Based on this, a new fast and simple method for the determination of the organophosphorus pesticides total-residues was developed. The method has been successfully applied to the determination of the organophosphorus pesticides total-residues in rice and soil, the recovery range was 92.1% ~ 96.8%. The relative standard deviation (RSD) range was 2.8% ~ 4.3%, which results are satisfactory. (2) In a pH = 6.0 medium of $\text{KH}_2\text{PO}_4\text{-Na}_2\text{HPO}_4$, the fluorescence intensity of Eosin Y is enhanced violently when a certain concentration of the Cetrimonium bromide (CTMAB) is added. The enhanced fluorescence intensity is declined obviously after adding organophosphorus pesticides and the reduced fluorescence intensity is proportional to the concentration of organophosphorus pesticides. Based on this, a new fast and simple method for the determination of the organophosphorus pesticides total-residues was developed. (3) In a pH 4.6 medium of $\text{KH}_2\text{PO}_4\text{-Na}_2\text{HPO}_4$, the fluorescence intensity of Neutral red(NR) is enhanced violently when a certain concentration of the Dodecylbenzene Sulfonic Acid Sodiumsalt (SDBS) is added. The enhanced fluorescence intensity is declined obviously after adding organophosphorus pesticides and the reduced fluorescence intensity is proportional to the concentration of organophosphorus pesticides. The linear range of this assay is 0.024 ~ 0.40 mg/L and with a detection limit of 0.014 mg/L. Based on this, a new fast and simple method for the determination of the organophosphorus pesticides total-residues was developed. The method has been successfully applied to the determination of the organophosphorus pesticides total-residues in flour and soil, the recovery range was 92.0 ~ 100.5%. The relative standard deviation (RSD) range was 1.08 ~ 1.81%, which results are satisfactory. (4) In the $\text{KH}_2\text{PO}_4\text{-Na}_2\text{HPO}_4$ (Sørensen) buffer solution at pH = 6.6, the fluorescence intensity of Titan yellow(TY) enhanced violently when a certain concentration of the Tween-80 is added. The enhanced fluorescence intensity is declined obviously after adding phoxim and the reduced fluorescence intensity is proportional to the concentration

of phoxim, the linear range of this assay is 0 ~ 0.72 mg/L and the detection limit is 0.031 mg/L. Based on this, a new fast and simple method for determination of the phoxim -residues was developed.

3. Study for the interaction theory between organophosphorus and fluorescence probe. The fluorescence spectra and the absorption spectra of dye, the complex of dye and organophosphorus, the complex of dye and surfactant and the complex of dye, surfactant and organophosphorus were studied. The reaction mechanisms of them were analyzed preliminarily.

KEY WORDS: residue of organophosphorus pesticide, fluorescence probe technology, surfactant, dye



目 录

摘 要.....	I
ABSTRACT	III
目 录.....	VII
第一章 绪论.....	1
1.1 有机磷农药残留分析的现实意义.....	1
1.1.1 有机磷农药及其使用现状	1
1.1.2 有机磷农药的危害.....	2
1.2 有机磷农药残留分析检测技术.....	3
1.2.1 样品前处理.....	3
1.2.2 有机磷农药残留的检测方法.....	6
1.3 荧光分析法的基本原理.....	9
1.4 本研究课题的来源及研究的主要内容.....	10
第二章 吡啶橙-十二烷基苯磺酸钠-有机磷农药体系的荧光反应及分析应用.....	13
2.1 实验部分.....	14
2.1.1 仪器与试剂.....	14
2.1.2 实验方法.....	14
2.2 结果与讨论.....	14
2.2.1 吸收光谱	14
2.2.2 荧光光谱.....	15
2.2.3 条件优化实验.....	16
2.3 分析应用.....	22
2.3.1 样品处理.....	22
2.3.2 回收率与精密度.....	22
2.3.3 样品分析.....	23
第三章 荧光法检测有机磷农药残留量及其分析应用.....	25
3.1 实验部分.....	25
3.1.1 仪器与试剂.....	25

3.1.2 实验方法.....	26
3.2 结果与讨论.....	26
3.2.1 荧光光谱.....	26
3.2.2 条件优化实验.....	27
3.3 分析应用.....	31
3.3.1 样品处理.....	31
3.3.2 回收率与精密度.....	31
3.3.3 样品分析.....	32
第四章 荧光法快速检测有机磷农药残留总量.....	35
4.1 实验部分.....	35
4.1.1 仪器与试剂.....	35
4.1.2 实验方法.....	36
4.2 结果与讨论.....	36
4.2.1 吸收光谱.....	36
4.2.2 荧光光谱.....	36
4.2.3 条件优化实验.....	37
4.3 分析应用.....	41
4.3.1 样品处理.....	41
4.3.2 回收率、精密度与样品分析.....	42
第五章 荧光法快速检测辛硫磷残留量.....	43
5.1 实验部分.....	43
5.1.1 仪器与试剂.....	43
5.1.2 实验方法.....	44
5.2 结果与讨论.....	44
5.2.1 光谱分析.....	44
5.2.2 条件优化实验.....	45
5.3 分析应用.....	49
5.3.1 样品处理.....	49
5.3.2 回收率与精密度.....	49

5.3.3 样品分析.....	50
第六章 总结与展望.....	51
参考文献.....	53
致 谢.....	61
攻读学位期间发表的学术论文目录.....	63
独 创 性 声 明.....	65



第一章 绪论

1.1 有机磷农药残留分析的现实意义

1.1.1 有机磷农药及其使用现状

随着世界人口日益增多,粮食供应也日趋紧张。估计到2020年,世界粮食需求量将由2000年的19.04亿吨增长至24.87亿吨^[1],而耕地却日益减少。据报道,全世界每年因受病虫害而减少的粮食产量,大约占粮食总量的30%左右^[2],加上旱涝气候引起的粮食减产,粮食的供应会更加紧张。农药对粮食增产起着十分重要的作用。如果停止使用农药等杀虫剂的使用,预计全世界就会有上亿人面临着饥饿的威胁。因此,农药是实现粮食产量增加的重要措施之一。但是,目前市场上流通的粮食果蔬都不同程度地存在农药残留问题,这主要是由于使用者普遍缺乏科学使用农药的知识,片面追求产量造成的。例如卫生防疫部门对市场上流通的粮食果蔬中农药残留量进行了检测,检测结果表明,近年农产品中农药含量超标及其严重,严重的地区甚至高达85%,国内最好的地区也有5%的农产品农药残留量超标。每年有10万人次的农药残留量超标中毒事件发生。随着人民生活水平日益提高,人们越来越关心如何吃得健康营养这个问题,“绿色食品”、“无公害食品”等无污染食品和蔬菜水果越来越受到人民的喜爱,果蔬中农药残留问题也日益引起公众的关注。

自1990年开始,我国农药产量一直位于世界第二位,由1991年的25.3万吨增加到1999年的42.6万吨^[3],并其产量也在逐年增大。目前人们普遍使用的农药有:有机磷、氨基甲酸酯和拟除虫菊酯等三大类。其中除拟除虫菊酯毒性相对较低外,前两类农药大都会对人畜造成危害^[4]。而有机磷农药是目前最常用的一类农药,它的优点很多,比如品种多、高效能、成本低、防治对象多、在环境中易降解等。因此在各种农作物中得到了广泛的应用^[5]。

有机磷农药属于有机磷酸酯类化合物,它们都含有C-P键或C-O-P, C-S-P, C-N-P键。市场上有几十种有机磷农药的正式商品,如辛硫磷、对硫磷、氧乐果、乐果、甲基1605、敌敌畏、马拉硫磷、甲拌磷、久效磷、甲胺磷、敌百虫、谷硫磷等。按化学结构可把有机磷农药分为四类:一、磷酸酯类;二、氨基磷酸酯类;三、二硫代磷酸酯类;四、硫代磷酸酯类。有机磷农药具有以下几个特点:(1)化学性质不稳定,易水解,在碱性

条件下易分解,如甲基1605被氧化后毒性增大,敌百虫在碱性溶液中分解转化为敌敌畏而毒性更大^[6,7];易氧化,易于在动植物体内降解。正确使用时残留问题小,不致污染环境;(2)杀虫效率高,广谱,作用方式多样;(3)化学结构复杂多变,品种多,适用范围广;(4)毒性差异大,比如辛硫磷、马拉硫磷、敌百虫等毒性低,而对硫磷、甲拌磷为剧毒品种。总的来说,有机磷农药的毒性偏高,但高毒品种正在逐步地被低毒品种代替;(5)与有机氯农药、拟除虫菊酯类杀虫剂相比,害虫对有机磷杀虫剂的抗药性发展缓慢。

1.1.2 有机磷农药的危害

有机磷农药大多数都属于高毒性农药,它在提高农作物产量的同时,对空气、水源、土壤和农牧产品也造成了严重的污染,从而破坏了生态环境,使人类健康受到影响。已有研究表明,某些有机磷农药对动物具有致畸性、致癌性^[8,9]、致突变危害,还可能引起咳嗽、肌肉麻木、诱发心血管疾病、癌症和糖尿病等慢性疾病;对于孕妇,还会影响胎儿的发育,甚至会导致胎儿的畸形^[10]。有机磷农药还可以通过消化道摄入,也可以通过皮肤和呼吸道吸收而引发中毒^[11],也会出现神经功能紊乱、皮肤刺激等症状。因此,从长期看,餐桌污染会对经济和民族发展带来严重的危害^[12,13]。还有农药的急慢性中毒,特别是果蔬、食品等污染后引发群体中毒事件屡有发生,这严重影响了人们对生活水平和生活质量逐渐提高的要求。虽然目前有机磷农药已经逐步禁止在农作物上使用,但是由于其杀虫效率高、选择性强、使用范围广、成本低,所以迄今有机磷农药仍被大量应用于农作物上。为此,世界各国已经对这一问题高度重视,投入大量的资金、人力和物力,一方面加强无公害绿色农药的研制开发和应用;另一方面,制定愈来愈严格的农药残留限量标准,以此来制止“药从口入”。另外,加入WTO后由于农药残留问题,我国农副产品的出口受到了严峻的挑战;随着现代生活节奏的加快,贸易往来的快捷等,要求现场检测的样品量迅速增加,这就必须要有快速、高效、简便、准确的检测方法作为保证。因此各国专家都在加速开展灵敏、准确的检测方法的研究。加强对农药残留的检测对保护生态环境,尤其是保障人类健康有着十分深远的意义。

随着人们对农业生态的关注以及对环境问题认识的不断深化,对农药的要求也越来越高,农药工业的发展已进入双超时期。双超指的是超高效益(高经济效益和高社会效益)和超低消耗(低耗能、低成本、低用量)^[14]。高效、低毒、低残留的新品种逐渐代替一些老品种农药。新农药的开发也向着选择性高、对环境无污染、农药用量少的方向发展。随着世界人口的增加,尤其是发展中国家,对粮食和农产品的需要日益增加,化

学农药依然是保证粮食作物增产的稳定而最为有效的手段。但是,农药的施用带来的负面影响主要是农药残留问题。了解农药残留状况,将有助于我们对农药污染现状及原因做出较为全面的了解和分析。同时,对农药的管理也起着极为重要的作用。

我国第一代杀虫剂有机氯农药在我国已经停止生产,有机磷农药作为我国的第二代杀虫剂已经被广泛的用于农业、工业和医药等领域。据资料统计,1994年有机磷和氨基甲酸酯类杀虫剂占全球市场的57%。由于有机磷农药防治对象多,应用范围广,在环境中易降解,低残毒等特点,是我国目前使用量最大的农药品种。我们曾经以为有机磷农药在食品中的残留量很小,因为它的降解半衰期一般是几周至几个月。但研究表明,这些所谓非持久性农药在有些环境条件下也会有较长时间的残存,可以在动物体内产生蓄积,而且在粮食作物和经济作物中均有检出,如甲胺磷、氧化乐果、辛硫磷、敌敌畏、敌百虫、甲基1605等主要的几种有机磷农药均存在残留超标现象。尤其在生长期短的蔬菜类作物方面,由于虫害多、施药量大,违章使用等,农药残留超标现象更为突出。有机磷农药中的氨基甲酸酯类,虽然大多数属中、低毒性农药,但其中呋喃丹、涕灭威等亦属高毒性的农药,残留问题同样不容忽视。

有机磷农药(OPs)在保障农作物产量方面的作用不可否认。但是,由于长期大量使用有机磷农药,即使微量或痕量地残留在粮食、蔬菜上,也极易对环境、人体、动物等产生急性或慢性的毒害。有机磷农药比任何其他农药造成的中毒事件都频繁、严重。因此对有机磷农药进行及时、准确、灵敏的监控和检测,成为急待解决的迫切问题。

1.2 有机磷农药残留分析检测技术

根据分析过程,对环境样品中的有机磷农药测定可分为样品的前处理和分析检测两个方面。样品的前处理过程在很大程度上决定了分析结果的可靠性和代表性,是分析样品准确性的关键环节和先决条件。

1.2.1 样品前处理

样品前处理包括待测物的提取和净化。提取就是用适当溶剂和方法将残留在试样中的农药从固态样品中转移到易于净化和分析的液态溶液中,是农药残留分析操作中很关键的第一步;净化是指将待测物与提取液中的干扰物质分离。在现代残留农药检测中,提取和净化可以一步完成^[15]。样品前处理应根据样品和待测农药的理化性质、种类等,在提取方法简便、快捷和试剂消耗尽可能少的前提下,采取合适的溶剂和方法进行提取,

以达到待测组分完全提取的目的, 要求杂质要尽量少。

由于农药理化性质和各种样品的不同, 采用的提取方法也不尽相同。传统经典的提取方法有: 浸渍法、消化法、漂洗法、匀浆法、索氏提取法^[16-21]、震荡法和超声法等。匀浆法、索氏提取法、超声法等的主要优势是提取的完全, 缺点是干扰物质太多^[22]。浸渍法、震荡法和漂洗法的特点是简便、快速和容易净化。20世纪90年代以来, 一些新的样品前处理技术不断被用于农药残留分析中。这些新技术和以往的提取方法相比有较高的提取效率和自动化水平, 节省了分析时间和各种试剂, 也大大的减轻了分析者的劳动强度。如今, 已报道或已被广泛应用的新技术主要有: 超临界流体提取(SFE)^[23-35]、固相萃取(SPE)、固相微萃取(SPME)等。

(1) 液相萃取

以往, 在农药残留的萃取方面主要以液相萃取为主, 它利用相似相溶的原理, 选择适合的溶剂, 将农药残留从样品基质中分离出来。但由于其样品处理复杂、花费时间长等缺点, 液相萃取正在逐步地被固相萃取取代。

(2) 固相萃取(SPE)和固相微萃取(SPME)

固相萃取(SPE)是20世纪80年代后期发展起来的一种样品预处理技术。与传统萃取法相比, 固相萃取不需要大量溶剂, 处理过程也不会出现乳化现象, 具有省时省力, 回收率高, 分离效果好, 操作简便等优点, 因而得到广泛应用, 是目前常用的净化手段。它的主要工作原理是: 利用吸附剂吸附液体样品中的待测化合物, 使干扰化合物和样品基质分离, 然后再用洗脱液将干扰化合物洗脱, 达到分离或者富集目标化合物的目的^[36-38]。吴小毛等^[39-44]用固相萃取的方法, 测定了果蔬等食品中多种有机氯、有机磷农药等残留量。任晋等^[45]建立了水中痕量除草剂的SPE-LC-MS联机分析检测方法。周芳等^[46-54]处理水样、冯翠玲等^[55]处理血浆、朱九生等^[56-57]处理土壤、Haib等^[58-60]处理中药材及烟草等样品。

固相微萃取是以固相萃取为基础, 它克服了固相萃取的一些缺点, 它将取样、萃取、富集分离和进样等过程融合为一体。这种萃取方法的优点是操作时间短, 样品量小, 无需萃取溶剂, 重现性好, 比较适合挥发性与非挥发性物质的分析, 比如水样中挥发性及半挥发性物质的分离富集^[61]。由于固相微萃取的突出优点, 它成为一种很有应用前景的环保的预处理方法, 如蔡亚岐等对固相微萃取-液相色谱联用技术的原理、发展现状、特点及其发展趋势等都做了详细的介绍^[61]; Beltran等^[62-68]对固相微萃取的研究及其进

展也做了研究。介绍应用这种方法的文献报道有很多：杨云等^[69]测定了土壤中的扑草净，Hwang^[70-73]等测定了中药及其它食材中的农药残留量，用固相微萃取处理环境水样中的农药残留量报道也很多^[74-79]。

(3) 超临界流体提取法(SFE)

超临界流体萃取(Supercritical Fluid Extraction)是指利用处于超临界状态的流体为溶剂提取样品中待测组分的提取方法。超临界流体是指处于临界温度和临界压力下的高密度流体，它介于气体和液体之间，综合了气体和液体的优点，粘度小、渗透力强，扩散速度快、对样品溶解性能好，还可以在低温下操作。

20世纪80年代以前超临界流体主要应用在食品工业中，它作为溶剂从咖啡和茶中萃取咖啡因。后来超临界流体色谱出现之后，超临界流体萃取才应用于样品制备方面。

超临界萃取过程中最常用的超临界流体是CO₂。CO₂气体无毒无味、不易燃，易制成纯品，价格低廉，临界条件适中(7.448 Mpa, 304.15 K)。在农药残留分析中，CO₂常用于提取非极性或弱极性农药。

这种提取方法可以连续提取待检测样品，提取效果好，并可通过优化分析条件选择性的提取目标分析物，与索氏提取法的提取效率相当，而且还可以直接分析提取的样品，省掉了浓缩过程以及对后面分析的干扰。在植物体内存在着的一部分不可提取物的农药或其代谢物，这些不可提取物在植物体内多数呈吻合状态。如用超临界CO₂提取2,4-D类除草剂的代谢物仅用了45 min^[80]。

超临界流体萃取还可以与许多分析仪器离线或在线联用，在线联用可以直接分析萃取的目标物，提高灵敏度。超临界流体萃取的应用多数集中在蔬菜^[81]、鱼肉^[82]等食材^[83-84]及药材^[85-86]中的农药残留提取。王欢等^[87-92]也综合地介绍了超临界流体的应用、发展趋势及和其他技术联用的展望。总之，目前报道的超临界流体萃取技术的研究还是比较多的。

(4) 消化法

这种方法多用于不易匀浆、不易捣碎的动物组织样本的分析检测。消化法就是往样本中加消化液，加热使样本消化，再用有机溶剂将待测农药提取出来。李攻科等^[93]就是用消化法测定了鱼肉中的有机氯农药。

(5) 索氏提取法(Soxxhelt)

索氏提取是一种经典的提取方法，这种提取方法萃取效率高，节约溶剂，操作简便，

但是提取时间长, 干扰物质较多。它主要是利用溶剂回流及虹吸原理, 使样品连续不断地被有机溶剂萃取。采用该方法时还需要考虑被测农药的热稳定性, 要求待测农药应在热溶剂中多次回流不会分解。经常用此方法来分析谷物及其制品、干果、干饲料、脱水蔬菜、茶叶等样品, 如周长征等提取细辛道地药材中的有机氯农药^[94], 张友松等以丙酮作有机溶剂测定了曝菌灵在香菇上的残留量^[95], 王元鸿等提取人参中有机氯农药^[96]。

(6) 超声波提取法

19 世纪 20 年代末后, 超声技术在各种领域得到广泛应用。在食品分析中, 超声波可以强化提取过程, 增强提取效率。超声波提取法是一种快速高效的提取方法。超声波提取法的突出特点是回收率高、提取时间短、提取温度低。提取剂可以是单一的有机溶剂, 也可采用混合有机溶剂。如用丙酮提取金银花中的多菌灵^[97], 采用的是单一的提取剂; 而高天兵等提取中药材、成药中有机磷农药^[98], 则采用丙酮和石油醚混合的提取剂。

(7) 微波辅助萃取法(MAE)

微波辅助萃取(Microwave Assisted Extraction)是利用极性分子可迅速吸收微波能量的性质而发展起来的一种新型的前处理方法。它的萃取剂一般为乙醇、丙酮等极性溶剂或者极性溶剂和非极性溶剂按一定比例混合的有机溶剂。当加热萃取剂时, 萃取溶剂的挥发使密封的萃取罐内压力增加, 从而萃取溶剂的沸点也增大, 提高了萃取温度。并萃取溶剂不会损失, 减少了萃取溶剂的用量。

微波辅助萃取利用微波能量强化了萃取效率, 它的提取效率与震荡法相差无几, 但大大缩短了分析时间。冯秀琼^[99]等仅用 5 min, 相当于震荡法提取时间(3h)的 1/36^[100]的时间就对金银花、三七、枸杞几种药材中的 14 种农药进行了提取。杨云等^[69,101-103]测定蔬菜、水、土壤等样品中的扑草净等农药残留量时也采用了此提取方法。还有干建松等^[104]综述了微波辅助提取技术的机理、特点、设备以及其研究进展和发展前景。

1.2.2 有机磷农药残留的检测方法

有机磷农药残留检测是复杂混合物中痕量组分的检测技术, 二十世纪 60 年代后气相色谱、高效液相色谱等的飞速发展拓宽了残留农药的检测范围。尤其是进入 90 年代后, 随着人们食品安全意识的提高, 食品中有机磷农药残留超标已经引起了人们普遍的重视, 世界各国都在加速开展快速、简便、灵敏、准确的检测方法的研究, 各种新的检测方法, 都取得了重要进展^[105]。常用的测定农药残留的方法主要有光谱法、气相色谱法(GC), 薄层色谱法(TLC)、高效液相色谱法(HPLC)、毛细管电泳法(CE)等。

(1) 波谱法

早期所用的微量化学试验法,其检测限在 Pg 级水平,用于商品农药的鉴别试验时容易出现鉴别错误,原因是该试验灵敏度低干扰多,不同有机磷农药的反应也不一样。随之就诞生了用分光光度计等来测定有机磷农药的方法,也就是波谱法。美国“政府分析化学协会”规定:检测敌敌畏,甲拌磷等时用红外光谱法,检测马拉硫磷,对硫磷等^[106]时用分光光度法。我国董文庚等^[107]曾利用分光光度法测定农药草甘膦,加标回收率为 94%~101%。梅建庭等人^[108]对水样中甲基对硫磷的含量进行研究测定,利用的是荧光分光光度法,检出限为 5.0 ug,线性范围为 0~2.0mg/L。

(2) 气相色谱法(GC)

气相色谱法是检测有机磷农药的国家标准方法,是 1952 年英国生物化学家马丁(Martin H.J.P) 等人创立的,1956 年我国也开始了对气相色谱的研究^[109]。它以气体作为流动相,采用淋洗的办法,要求被分离的组分,在色谱柱内运行时必须处于“气化”状态。根据色谱柱的不同形式,气相色谱可分为填充柱式和毛细管气相色谱等。

长期以来,气相色谱法在残留农药分析中占有绝对优势。国家标准 GB/T 17331-1998 中采用气相色谱法作为检测残留有机磷农药的标准方法^[110]。以前主要以填充柱式气相色谱为主,现在毛细管气相色谱在残留农药分析中则占了主要优势。

①毛细管气相色谱法(CGC)

毛细管柱在分辨能力、灵敏度、分析速度以及色谱柱的相对惰性等方面都比填充柱优越。特别是由于弹性石英毛细管柱的出现,使毛细管柱的操作更方便。本世纪 70 年代毛细管气相色谱开始应用于农药残留分析,80 年代初已初有成效^[111]。1983 年美国惠普公司推出了 530gm 内径的弹性石英毛细管柱,称之为大口径柱^[112]。朱梦栩等^[113]用大口径柱测定茶叶中三氯杀螨醇的残留量,检测限为 0.5ug/kg。

②检测器的选择

现代气相色谱采用多检测器,对不同的样品选用不同的检测器。电子捕获检测器(ECD)在以往的 30 多年来一直是最常用的检测器,特别适合有机氯农药的检测。但是它的选择性不好,在检测基质复杂且难净化的农产品时 ECD 的效果很不好。现代技术采用核心切换和反冲技术的二维色谱就能很好地解决这个问题^[114]。氮磷检测器(NPD)对氮和磷具有很好的选择性,是检测有机磷和氨基甲酸酯类农药的常用检测器^[115]。原子激发检测器(AED)对测定 F, Cl, Br, I, S, P, N 等元素有很好的选择性,1989 年已开始应用于

农药残留研究。Leep 用原子激发检测器来测定 12 种蔬菜和水果中含 C1, F, P 的农药残留, 测定结果表明, 和其他选择性检测器相比 AED 有更好的选择性。

气相色谱分析的优点是分离效能好, 灵敏度高, 分析速度快, 操作方便等, 但由于残留农药在色谱柱内运行时必须处于“气化”状态, 由于技术条件有限, 气相色谱仪的工作温度不能超过 500℃^[109], 所以无法用气相色谱分析沸点太高的和热不稳定的农药。

(3) 薄层色谱(TLC)

自从 20 世纪 50 年代 Stahl^[116]提出了 TLC 以后, 薄层色谱技术已发展成为一种成熟的应用广泛的微量检测技术。近年来由于高效薄层板的出现和应用大大的提高了 TLC 的分离效率, 也大大地缩短了分析时间^[109]。TLC 可以同时进行多个样品分离, 操作方便, 价格便宜。因此该法在残留农药的现场快速经济检测方面具有其他几种方法所不具备的优势。由于农药样品残留成分复杂, 因此该法在实验步骤上还有待作进一步的研究和改进, 如提取, 净化、浓缩, 吸附剂的选择, 展开剂的配制, 展开方式及显色方法等。Vahkevich.OV 用酶抑制显色的高效薄层色谱法 (HTLC)检测马铃薯中的有机磷农药, 检测限提高到 0.01~5ng; Paul Richards 等^[117]对有机磷农药中毒的老鼠的脑组织中的对氧磷、敌敌畏等有机磷农药进行了分析测定, 用的也是薄层色谱法, 检测限达 0.01~5 ng。我国也有用薄层色谱检测农药的类似报道, 如侯玉华等^[118]检测蔬菜中的甲胺磷, 关一亮^[119]检测氧化乐果等等。

(4) 高效液相色谱(HPLC)

高效液相色谱法在经典液相色谱的基础上, 引入了气相色谱理论, 并加以改进而发展起来的一门强有力的分离分析技术。和气相色谱法相比, 它分离效能好, 灵敏度高, 检测快速, 应用广泛。HPLC 也可以检测气相色谱所不能测定的沸点高, 不能气化以及易裂解的农药。有将近一半的有机磷农药都可以用 HPLC 法检测^[120]。有关 HPLC 的研究报道有很多: Mallel V. N. 提取环境水中的有机磷农药时研究了 7 种不同的萃取方法, 用 HPLC 来检测 E21; Carabias R 采用紫外 HPLC 来检测水果中的有机磷; Khuhawar M.Y^[121]等在研究马拉硫磷在碱性条件下的水解规律时也用了 HPLC 法检测方法。不断改进的 HPLC 技术逐渐扩大了它的应用范围。由于高效液相色谱仪价格昂贵, HPLC 法不易在基层推广和普及。但随着我国经济的高速发展, HPLC 很可能以其特有的优势在有机磷农药检测中占据重要地位。

(5) 液相色谱一质谱联用技术(LC-MS)

气相色谱与质谱的联用技术(GC-MS)已经比较成熟。近几年来,一种热喷雾和离子流式接口技术的出现建立了 LC-MS 技术,并使其成功地应用于那些难以用 GC-MS 分析的热不稳定、分子量较大的化合物的分析^[122]。LC-MS 灵敏度高、选择性好、对残留农药的检测能力几乎通用,以及对阳性结果进行在线确证,还可以简化样品前净化过程等优点。但 LC-MS 仪器较昂贵,需要有比常规分析方法更高的专业技能。

(6) 毛细管电泳(CE)

CE 的工作原理是使用毛细管柱内的不同带电粒子在高压场作用下以不同的速度在背景缓冲液中定向迁移,从而进行分离。有时候定量分析时,处于发展阶段的 CE 没有 HPLC 的重现性好。

除了以上常用的几种检测方法外,近年来各种不同的检测方法都取得了快速的发展。如酶抑制法、生物芯片技术和生物传感器技术等。近几年来,生物传感器技术因具有灵敏、快速、选择性高、样品预处理简单、适合现场和在线监测等优点,成为研究的热点。另外,还有经典的化学比色法、免疫法等。光谱法和色谱法是监测检验部门分析有机磷农药的主要方法,酶抑制法则更适合于基层单位的快速检测,酶抑制法具有操作简单,快速,无需复杂的样品前处理过程等特点^[123]。免疫法和生物芯片技术代表未来的发展方向,目前尚待完善。有机磷农药残留检测所面临的主要课题是快速和精确检测。我国果蔬等食品产销比较分散,检测时因种种原因都不太适合于上述方法。

随着人们生活水平与环保意识的日益提高,我们除了要严格地控制有机磷农药的生产、运输、使用等环节外,还必须不断研究和探索新的检测方法来满足国民对环境和食品安全的需要。

1.3 荧光分析法的基本原理

荧光指的是当紫外光照射到特定物质上时,这些物质会发射出各种颜色和不同强度的可见光,而当紫外光停止照射时,这种光线也随之消失。利用这些物质被紫外光照射后所产生的、能够反映该物质特性的荧光,以进行该物质的定性分析和定量分析,称为荧光分析。

荧光分析方法是以前述荧光探针与生物大分子结合后的荧光特性、电化学特征、动力学特征、自聚特征等为基础而建立。荧光分析法的测定机理是生物大分子对探针分子荧光强度的影响。荧光探针荧光强度的变化与加入生物大分子的量有明显的线性关系,从而

进行定量测定。荧光探针的引入也可使受体分子发生荧光猝灭或荧光增强现象。荧光猝灭指的是荧光物质分子与溶剂分子或溶质分子之间所发生的导致荧光强度下降的物理或化学作用过程。荧光猝灭过程实际上是由于发光分子的激发态寿命缩短的过程。荧光猝灭主要分为静态猝灭和动态猝灭两种。静态猝灭是由于荧光发色基团与猝灭剂形成了不发荧光的复合物而发生荧光猝灭,后者则是由于猝灭剂在激发态寿命时间内扩散或插入到生物大分子的荧光发色团中,使猝灭剂不发射光子而直接返回到激发态。有资料表明,荧光染料作为荧光探针已用于 DNA 和蛋白质的定量测定,具有灵敏度高、线性范围宽的特点。以染料染料作为荧光探针,建立有机磷残留测定的新方法是一种新尝试。

与紫外-可见分光光度法相比,荧光分析法具有许多突出优点:灵敏度高,选择性好;具有多种测定参数,如荧光寿命、荧光量子产率、激发波长、发射波长等;具有多种检测技术,如同步荧光、三维荧光、导数荧光、共振荧光、荧光动力学分析法等^[124]。由于荧光分析方法的突出优点,使其从一建立起,就引起研究者的普遍重视,并很快在实际分析应用中推广使用。目前已被广泛应用在工业、农业、卫生、医药、司法鉴定等各个领域。因此荧光分析法已发展成为一种重要分析方法。

随着荧光技术的不断发展,荧光分析不再仅局限于一些强荧光的物质的分析,还可以利用“荧光探针”技术即某些试剂与非荧光或弱荧光物质以共价或其他形式结合形成发荧光的络合物或聚集体进行测定,对无荧光或弱荧光的物质分析。用作探针的试剂必须具备以下三个条件:(1)探针与被研究分子的某一微区必须有特异性结合,且结合得比较牢固;(2)探针的荧光必须对环境条件灵敏;(3)结合的探针不影响被研究的大分子的结构和特性。

1.4 本研究课题的来源及研究的主要内容

综上所述,有机磷农药的大量使用对生态环境和人类健康引发的种种危害也越来越引起各国政府和公众的关注。加强对有机磷农药残留监测方法的研究,对正确指导使用农药,保护生态环境和人类健康,避免不必要的农业损失等都具有重要的现实意义。从已有的文献来看,荧光技术在有机磷农药残留检测中的应用还不多,这主要是由于多数农药本身不具荧光,不易直接测定;再加上有机磷农药品类多,简单的荧光分光光度法存在选择性不高,基体干扰严重等缺陷。未来的研究应进一步提高方法的灵敏度和选择性,反应机理的研究,提高方法的仪器化和自动化,以及加强固相萃取、固相微萃取等

样品前处理技术与荧光分析技术相结合,而具有高选择性的荧光探针的研究应用也是一个很有前景的发展方向。为此,本文建立以下四种新型荧光探针,用于有机磷农药的测定,并对其机理进行探讨。

1. 吡啶橙-十二烷基苯磺酸钠-有机磷农药体系的荧光反应及分析应用
2. 曙红作为荧光探针检测有机磷残留总量及其分析应用
3. 中性红作为荧光探针测定有机磷农药
4. 达旦黄作为荧光探针快速检测辛硫磷残留量



第二章 吡啶橙-十二烷基苯磺酸钠-有机磷农药体系的荧光反应 及分析应用

有机磷农药是我国使用量最大的农药种类, 此类农药能有效地控制害虫、杂草及细菌的生长, 提高农业产量, 但它属于高毒性农药, 大量使用会造成许多潜在的危害。为预防和处理引起的危害, 及时、准确地检测有机磷农药显得尤为必要。目前我国对农药残留检测的主要手段仍然依赖气相色谱法^[125-127]、气相色谱-质谱联用法^[128-129]等大型现代分析仪器, 使用这些这些大型仪器, 价格昂贵、检测成本高, 检测时间长, 操作人员需经长时间培训, 且不能实现现场检测^[130]。本实验中吡啶橙(AO)溶液中加入阴离子表面活性剂SDBS, 吡啶橙溶液的荧光强度明显增强, 后又加入有机磷农药(phoxim)后荧光强度又显著下降。试验又发现的荧光强度与该体系中有有机磷农药浓度呈良好的线性关系, 因此本体系可用于有机磷农药残留总量的测定。该方法解决了有机磷农药总磷分析的难点, 具有简便、快捷、准确、灵敏度高等优点。

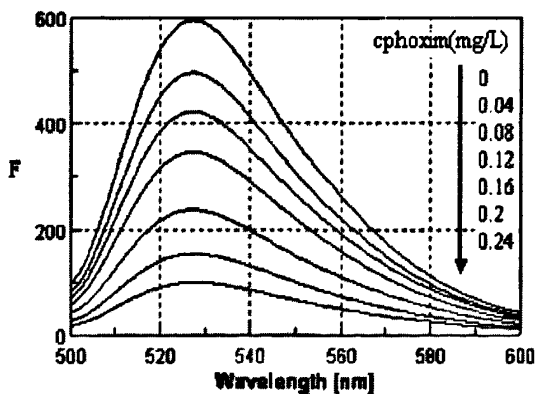


图 2-1 辛硫磷浓度对体系荧光强度的影响

[phoxim]: 0, 0.04, 0.08, 0.12, 0.16, 0.2, 0.24 mg/L

[AO]: 3.0×10^{-6} mol/L, [SDBS]: 7.0×10^{-4} mol/L, pH=6.20,

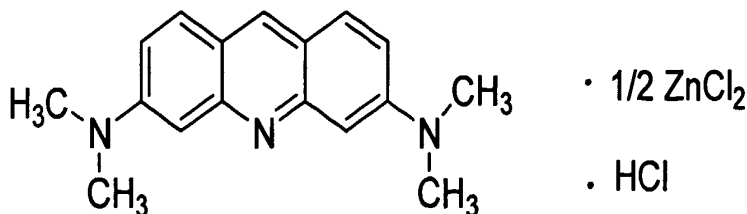


图 2-2 吡啶橙的结构式

2.1 实验部分

2.1.1 仪器与试剂

FP-6500 型荧光光谱仪(日本分光公司); TU-1900-双光束紫外-可见分光光度(北京普通分析仪器厂); 930A 荧光光度计(上海三科仪器有限公司); RE-2000 旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂); PHS-3C 数字酸度计(杭州东星仪器设备厂); 低温恒温槽(上海恒平科学仪器有限公司); KQ-218 超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。

辛硫磷(phoxim)、氧乐果(omethoate)、敌敌畏(dichlorovos)、敌百虫(trichlorphon)、乙酰甲胺磷(acephate)等配制成浓度均为 800 mg/L 的甲醇溶液(冷藏保存), 使用时用甲醇稀释至所需浓度; 十二烷基苯磺酸钠(SDBS), 十二烷基硫酸钠(SDS), 溴化十六烷基吡啶(CPB), 十二烷基磺酸钠(SLS), 溴化十六烷基三甲基铵(CTMAB), 以上均为 1.0×10^{-2} mol/L 的水溶液; 浓度为 1g/L OP 的水溶液; 1.0×10^{-3} mol/L 吡啶橙(AO), 使用时用水稀释至所需浓度; 丙酮、乙醇和甲醇(北京化工厂); KH_2PO_4 — Na_2HPO_4 缓冲溶液 pH=5.2~7.8; 所用试剂均为分析纯, 试验用水均为二次去离子水。

2.1.2 实验方法

在一系列 10 mL 比色管中依次加入一定量的表面活性剂, 0.7 mL KH_2PO_4 — Na_2HPO_4 pH 为 6.20 的缓冲溶液, 和适量的有机磷农药辛硫磷, 0.3 mL 浓度为 1.0×10^{-4} mol/L 的吡啶橙溶液, 待反应充分后, 用 494 nm 波长光激发, 在 528nm 处测定发射光强度 F, 狭缝宽度均为 5nm, 同时在相同条件下测试剂空白液的荧光强度 F_0 。

2.2 结果与讨论

2.2.1 吸收光谱

图 2-3 为吡啶橙在不同介质中的吸收光谱。在橙黄色的吡啶橙溶液在 489nm 处有一最大吸收峰(曲线 1), 加入 phoxim 后荧光强度略有增大(如曲线 2、3)。随着阴离子表面活性剂 SDBS 的加入, 最大吸收波长红移至 494 nm 处(曲线 4), 吸收强度明显增大, 这说明了 SDBS 和吡啶橙之间发生了某种反应。随着 phoxim 的加入, 吸收强度随着体系中 phoxim 浓度的增大而减小(曲线 5、6), 这说明了 AO-SDBS 与 phoxim 之间发生了某种反应。

由图可知, 4、5、6 光谱曲线在 470 和 494nm 附近都有吸收峰, 形成驼峰, 据 Tan 和 Robinson 等人报道^[131,132]水溶液中 AO 单体和不发荧光的二聚体的特征吸收峰分别在 492 和 465nm。在 SDBS 介质中 494nm 处的吸光度大于 470nm 处的吸光度, 可以推断 AO 在此体系中主要以单体形式存在

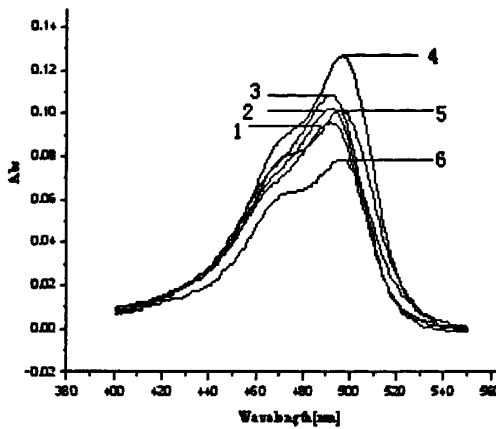
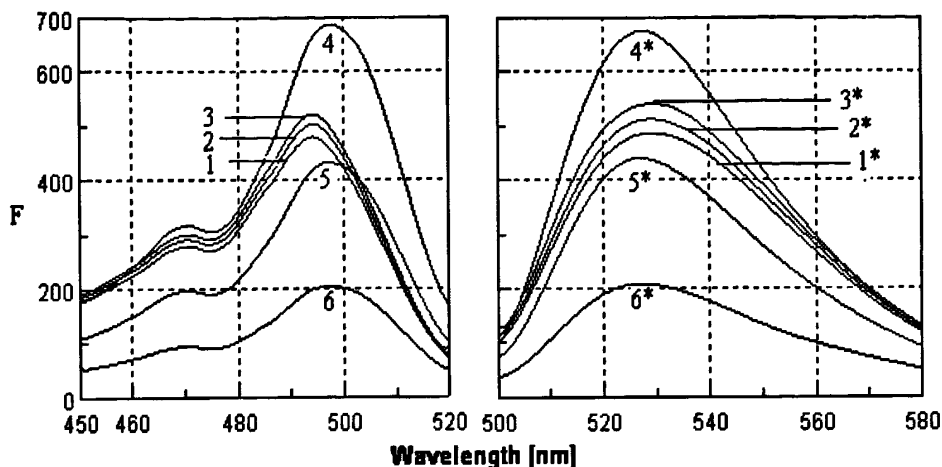


图 2-3 AO、AO-phoxim、AO-SDBS 和 AO-SDBS-phoxim 体系的吸收光谱图

[AO]: 3.0×10^{-6} mol/L. [SDBS]: 7.0×10^{-4} mol/L. [phoxim]:0.12 mg/L(2、5); 0.24 mg/L(3、6)
AO(1);AO-phoxim(2、3) AO-SDBS(4);AO-SDBS-phoxim(5、6)

2.2.2 荧光光谱

如图 2-4 所示, 在 pH=6.20 的介质中, 吡啶橙的最大激发波长 489 nm, 最大发射波长 528 nm, 当加入 phoxim 后, AO 的荧光强度略有增加(曲线 2*、3*), 这说明 AO 与 phoxim 结合, 使其共轭体系变大, 离域 π 电子较易激发; 当在 AO 溶液中加入一定浓度的 SDBS 后, 荧光强度明显增大(曲线 4*), 并且激发波长红移至 494 nm, 当再加入不同浓度的 phoxim 后, 发现荧光强度明显降低(曲线 5*、6*), 但峰位置并不发生改变, 且荧光降低的程度与 phoxim 浓度在一定范围内成正比(如图 4), 因此可用于 phoxim 的测定。关于实验机理, 我们认为: AO 在溶液中以发荧光的单体和不发荧光的二聚体形式存在, SDBS 的加入使 AO 二聚体更多的向单体转化, 因此荧光强度增大。而加入辛硫磷后, 三者相互作用生成了不发荧光的三元聚合物 AO-SDBS-phoxim, 降低了 AO 单体的浓度, 因此总体荧光强度呈下降趋势。



(a) excitation spectra;

(b) emission spectra.

图 2-4 AO、AO-phoxim、AO-SDBS 和 AO-SDBS-phoxim 体系的荧光光谱图

AO(1,1*);AO-phoxim(2,3,2*,3*);AO-SDBS(4,4*);AO-SDBS-phoxim(5,6,5*,6*)

[AO]: 3.0×10^{-6} mol/L.[SDBS]: 7.0×10^{-4} mol/L.pH=6.20.[phoxim]:0.12mg/L(2,5,2*,5*),0.24mg/L (3, 6,3*,6*)

2.2.3 条件优化实验

(1) 反应体系的选择

选取 AO+CPB、AO+SDBS、AO+SLS、AO+CTMAB、AO+OP 和 AO+SDS 体系进行对比实验。试验结果显示：SDBS 对体系的作用最为显著。因此我们选择 AO+SDBS 体系，在此体系下测定时，加入农药后 ΔF 值最大($\Delta F = F_0 - F$)，灵敏度最高且最稳定。

(2) 缓冲溶液及 pH 值的选择

AO 是具有较强荧光的碱性染料，有机磷农药在碱性条件下很不稳定，极易水解，因此，选择了 pH 为 6.7 的 Clark-Lubs、Britton-Robinson、Mellvaine、Sørensen、Kolthoff 等几种缓冲溶液，结果表明：在 Sørensen 缓冲溶液中， ΔF 最大且最稳定，故我们在该体系选取 Sørensen 缓冲溶液。接着选用一系列 pH 为 5.2~7.8 的 Sørensen 缓冲液的不同反应体系进行试验。结果发现：在 pH 为 6.20 的反应体系中时(见图 2-5)， ΔF 最大且可获得良好的线性关系，故选取 pH 为 6.20 的 Sørensen 缓冲液。

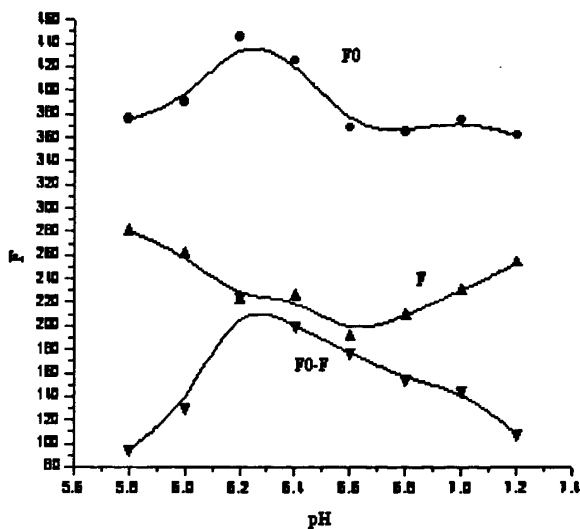


图 2-5 pH 值对体系荧光强度的影响

[AO]: 1.0×10^{-5} mol/L, [SDBS]: 1.0×10^{-3} mol/L, [phoxim]:0.12 mg/L

(3) 最佳 AO 浓度的确定

如图 2-6 所示, 当 AO 浓度为 3.0×10^{-6} mol/L 时测定的灵敏度最高且有很好的线性关系, 所以选 AO 浓度为 3.0×10^{-6} mol/L 为测定农药的最佳浓度。

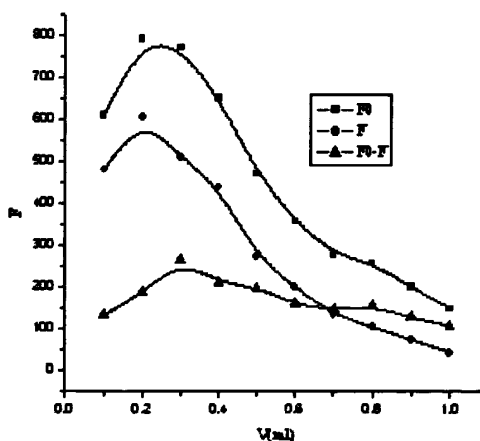


图 2-6 AO 浓度对体系荧光强度的影响

[SDBS]: 7.0×10^{-4} mol/L, [phoxim]:0.12 mol/L, pH=6.20

(4) 最佳 SDBS 浓度的确定

SDBS 的加入使体系荧光强度升高, 且随着 SDBS 浓度的增大 F_0 、 F 和 ΔF 值都显著增大。但当体系 SDBS 浓度大于 8.0×10^{-4} mol/L 时, 工作曲线较早弯曲, 线性范围随之变窄。综合两者, 故体系选择 SDBS 浓度为 7.0×10^{-4} mol/L 为反应的最佳浓度。

(5) 缓冲溶液用量的选择

使体系中 SDBS、AO 和农药的浓度不变, 考察缓冲溶液用量的影响, 试验结果发

现：当缓冲溶液用量为 0.6~0.8 mL 时(如图 2-7) ΔF 基本不变且线性好，灵敏度高，故本体系选择 0.7mL 的缓冲溶液。

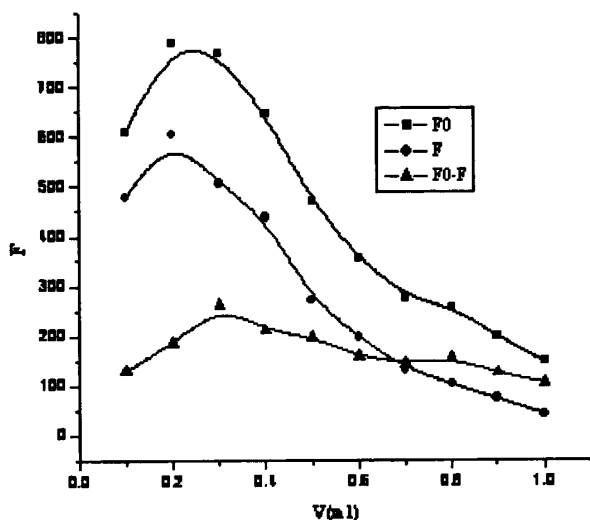


图 2-7 缓冲用量对体系荧光强度的影响

[AO]: 3×10^{-6} mol/L [SDBS]: 7.0×10^{-4} mol/L.[phoxim]:0.12mol/L.pH=6.20

(6) 试剂加入顺序的选择

本实验考察了 24 种试剂加入顺序对体系荧光强度的影响，结果发现：当顺序为 SDBS+buffer +phoxim+AO, buffer + SDBS+ phoxim+AO, AO+phoxim+ SDBS+buffer 这三种加入顺序时体系的 ΔF 大且体系比较稳定，本体系选择 SDBS+buffer +phoxim+AO 加入顺序为最佳实验顺序。

(7) 反应温度和时间的影响

固定时间来考察温度的影响，发现随着温度的升高 ΔF 基本上呈逐渐减小的趋势(见图 2-8)。在室温 18°C 时灵敏度较高且稳定，因此选取 18°C 为该反应的最佳温度。

在该温度下反应 15min 后体系达到稳定且在 2h 内荧光强度变化不大(见图 2-9)。

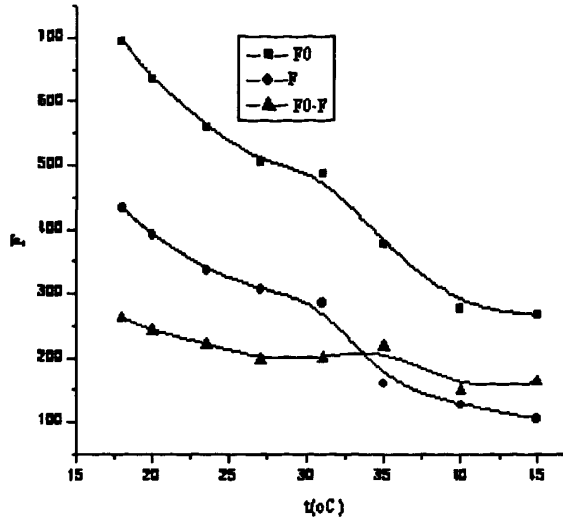


图 2-8 温度对体系荧光强度的影响

[AO]: 3×10^{-6} mol/L [SDBS]: 7.0×10^{-4} mol/L.[phoxim]:0.12 mol/L.pH=6.20

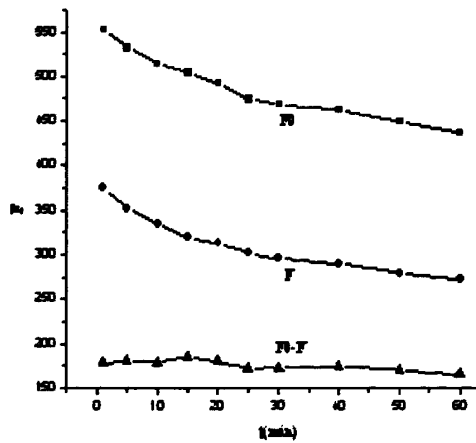


图 2-9 反应时间对荧光强度影响

[AO]: 3×10^{-6} mol/L [SDBS]: 7.0×10^{-4} mol/L.[phoxim]:0.12 mol/L.pH=6.20

(8) 离子强度的影响

用 0.1 mol/L 的 NaCl 的加入量来试验离子强度对体系的影响 (图 2-10)。试验发现：体系中 NaCl 浓度越大， F_0 、 F 、 F_0-F 的值也越大，灵敏度也越高。

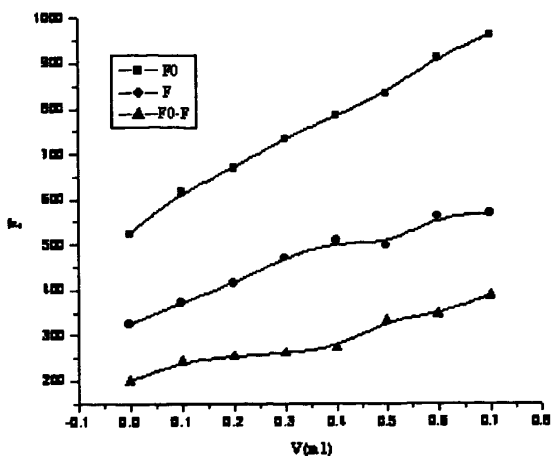


图 2-10 NaCl 浓度对体系荧光强度影响

[AO]: 3×10^{-6} mol/L [SDBS]: 7.0×10^{-4} mol/L.[phoxim]:0.12mol/L.pH=6.20

(9) 有机溶剂的影响

试验了农药的丙酮、甲醇和乙醇等不同有机溶剂的标准液对体系的影响。发现：用农药的甲醇溶液对体系的影响最大，灵敏度高且稳定。又试验了甲醇加入量对该体系的影响(如图 2-11)，当甲醇浓度 $\Psi < 4\%$ 时， ΔF 基本保持不变；当 $\Psi > 4\%$ 时， ΔF 迅速减小，并且体系的稳定性变的越来越差，故溶液中甲醇的用量要控制在 4% 以内。

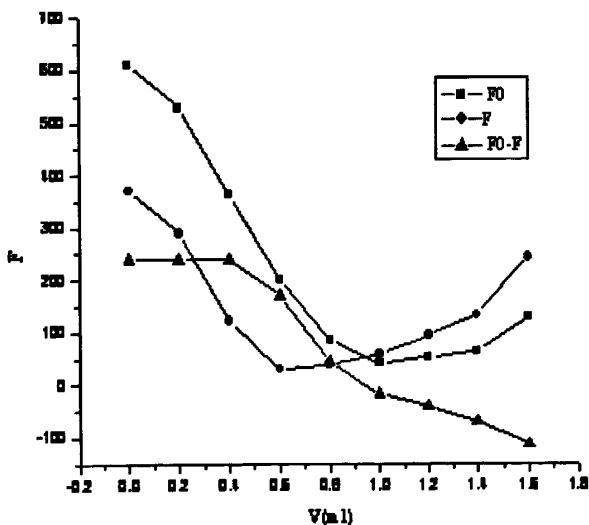


图 2-11 有机溶剂对体系荧光强度的影响

[AO]: 3×10^{-6} mol/L [SDBS]: 7.0×10^{-4} mol/L.[phoxim]:0.12mol/L.pH=6.20

(10) 各种农药对该体系的响应

试验了敌敌畏、辛硫磷、乙酰甲胺磷、氧乐果和敌百虫等几种有机磷农药对该体系的不同响应情况，且绘制出相应的工作曲线，如图 2-12。从图上我们可以看出每种农药均有响应，灵敏度高线性关系也较好；还试验了杀虫单等几种非有机磷农药对该体系的

响应, 结果发现均无响应, 因此可以认为该方法可以测定有机磷农药残留的总含量。

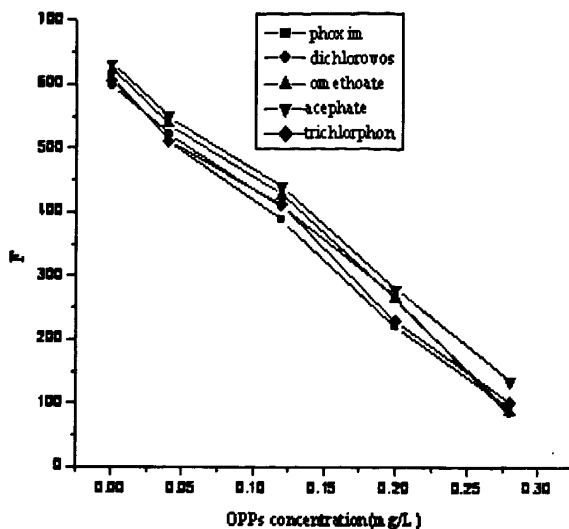


图 2-12 各种有机磷农药的工作曲线

[AO]: 3.0×10^{-6} mol/L. [SDBS]: 7.0×10^{-4} mol/L. pH=6.20. [OPPs]:0, 0.04, 0.12, 0.20, 0.28 mg/L

(11) 工作曲线

在优化实验条件下, 按实验方法获得了测定辛硫磷的工作曲线(见图 2-13), 线性回归方程为: $F=678.0 - 2319.2C(\text{mg/L})$, 检出限为 0.02mg/L, 线性范围为 0.02~0.28mg/L, 相关系数为 $R=0.9994$. 对浓度为 0.12 mg/L 的辛硫磷标液 11 次平行测定结果的相对标准偏差为 2.78%, 平均值为 0.117mg/L。

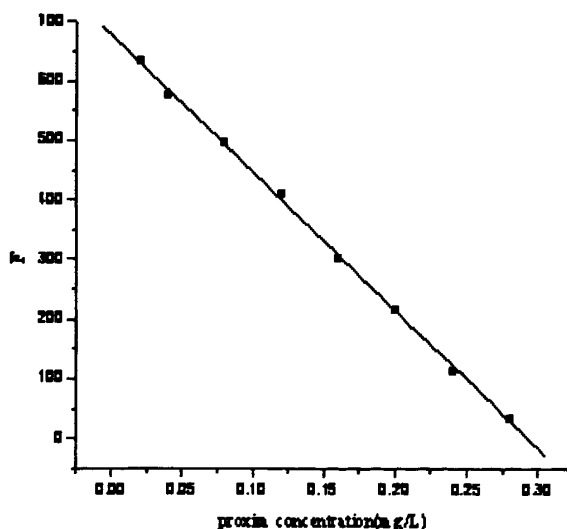


图 2-13 标准工作曲线

[AO]: 3.0×10^{-6} mol/L [SDBS]: 7×10^{-4} mol/L pH=6.2

[phoxim]:0, 8×10^{-4} , 0.04, 0.08, 0.12, 0.16, 0.20, 0.24, 0.28 mg/L

(12) 干扰物质的影响

试验了20多种常见化合物和离子在该体系中对测定的影响。在相对误差 $\leq \pm 5\%$ 时, 体系中辛硫磷浓度为 0.12 mg/L, 测定结果见下表2-1。

2.3 分析应用

2.3.1 样品处理

准确称取土样和大米样品各 10g 于 100mL 烧杯中(土样是根据中华人民共和国国家标准 15N 土壤、植物标准样品 GB 9838-1988 制备的, 大米经研钵研碎后过 40 目筛), 后往烧杯中加入 50mL 甲醇(土样中再加入 1.0g 无水硫酸钠), 超声波仪器超声振荡 50min 后, 用布氏漏斗减压抽滤, 用甲醇溶剂分两次冲洗残渣和抽滤瓶以保证提取完全, 然后用真空旋转蒸发器将滤液在 45℃下浓缩至小于 5mL, 并将浓缩液转至 10mL 容量瓶中用甲醇定容待测。

2.3.2 回收率与精密度

向10.00g土壤样品和大米样品中分别加入phoxim标准溶液, 按2.3.1中样品处理方法进行样品的处理, 然后在该体系优化的实验条件下, 按2.1.2中实验方法测定样品空白和添加了phoxim标准液的样品, 每个平行测定5次, 结果见表2-2, 回收率在74~96.8%之间, 相对标准偏差为2.8~4.3%。按照回收率在85%~112%为符合要求, 90%~110%为最佳的判定依据, 本实验符合农药残留分析的要求。

表2-1 共存物质的影响

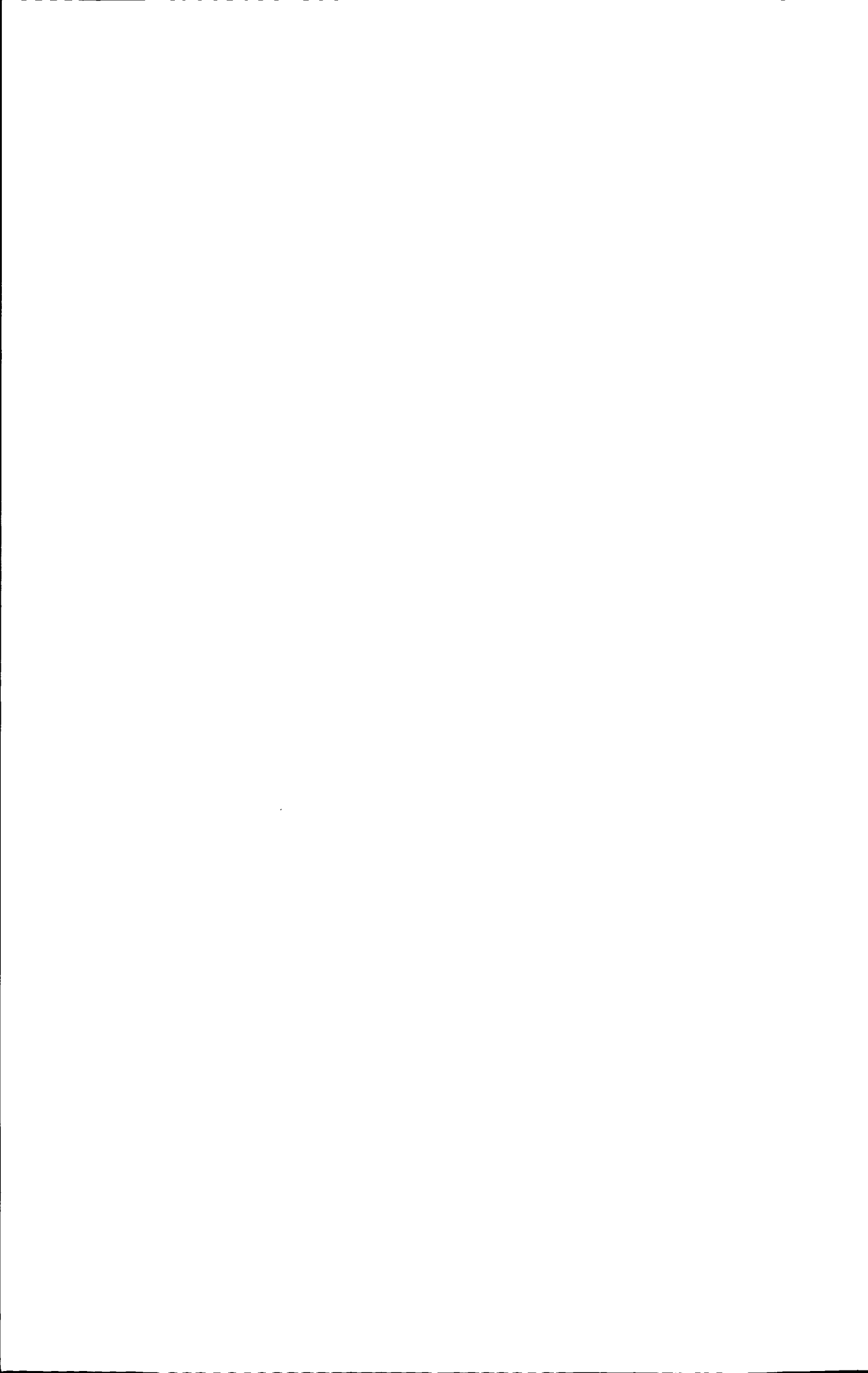
干扰物质 Foreign substance	浓度 Concentration (mg/L)	相对误差 Relative error(%)	干扰物质 Foreign substance	浓度 Concentration (mg/L)	相对误差 Relative error(%)
Na ⁺	2	+5.8%	Ba ²⁺	0.6	4.6%
K ⁺	4.5	5.5%	Co ²⁺	0.02	4.2%
Pb ²⁺	0.4	-5.6%	Ag ⁺	0.18	-4.5%
Sr ²⁺	0.4	5.2%	NH ₄ ⁺	0.3	-5.8%
Zn ²⁺	0.5	5.9%	Fe ³⁺	0.06	4.0%
Mn ²⁺	0.5	-4.4%	Cu ²⁺	0.18	-4.5%
Ni ²⁺	0.1	+4.7%	淀粉	8	+5.5%
Cr ³⁺	0.03	-4.0%	柠檬酸	3.0	-4.5%
Hg ²⁺	0.1	-4.5%	葡萄糖	9	-4.0%

2.3.3 样品分析

本试验大米购于新乡一超市，未检测到农药；土壤样品取自河南师范大学东区旁边的一块菜地，土样中样品测定值为0.113mg/L，即土壤中有机磷农药含量以辛硫磷计为3.53mg/kg。

表2-2 样品测定结果

样品	平均测定值/ mg·L ⁻¹	加标量/ mg·L ⁻¹	加标后测定值/ mg·L ⁻¹	加标后测定平均值/ mg·L ⁻¹	加标平均 回收率/%	RSD /%
大米	0	0.12	0.107 0.112 0.109 0.115 0.110	0.111	92.1	2.8
土壤	0.113	0.12	0.240 0.227 0.223 0.225 0.213	0.226	96.8	4.3



第三章 荧光法检测有机磷农药残留量及其分析应用

目前我国使用量最大的农药是有机磷农药,但它属于高毒性农药,它的广泛使用会对空气、水源、土壤和农牧产品也造成了严重的污染,从而破坏了生态环境,使人类健康受到影响。农药被喷洒到农作物上以后,在农作物体内会留下少量的残留。如果长时间摄食这样的食品会对人体造成严重的影响,甚至会对后代也带来潜在的危害。因此,建立测定有机磷农药残留量的分析方法对生命科学、环境科学等都具有十分重要的实际意义和使用价值。

目前我国对农药残留检测的主要手段仍然依赖气相色谱法、气相色谱-质谱联用法等大型现代分析仪器。荧光法具有快速、简便、灵敏度高等优点,在生物、化学、医药、环保等方面已有广泛的应用,但用此方法来检测有机磷农药残留量的报道还不多。本实验中,曙红溶液中加入阳离子表面活性剂 CTMAB,曙红溶液的荧光强度明显增强,后在该体系中加入有机磷农药后荧光强度显著下降。实验发现荧光强度与有机磷农药浓度呈良好的线性关系,因此本体系可用于有机磷农药残留总量的测定。该方法解决了有机磷农药总磷分析的难点,具有简便、快捷、准确、灵敏度高等优点。

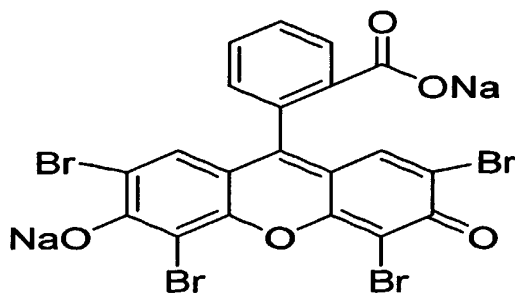


图 3-1 曙红的结构式

3.1 实验部分

3.1.1 仪器与试剂

FP-6500 型荧光光谱仪(日本分光公司); TU-1900-双光束紫外-可见分光光度(北京普通过分析仪器厂); 930A 荧光光度计(上海三科仪器有限公司); RE-2000 旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂); PHS-3C 数字酸度计(杭州东星仪器设备厂); 低温恒温槽(上海恒平

科学仪器有限公司)；KQ-218 超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。

辛硫磷(phoxim)、敌敌畏(dichlorovos)、氧乐果(omethoate)、敌百虫(trichlorphon)、乙酰甲胺磷(acephate)等配制成浓度均为 800 mg/L 的甲醇溶液(冷藏保存)，使用时用甲醇稀释至所需浓度；十二烷基苯磺酸钠(SDBS)，溴化十六烷基三甲基铵(CTMAB)，十二烷基硫酸钠(SDS)，溴化十六烷基吡啶(CPB)，十二烷基磺酸钠(SLS)，以上均为 1.0×10^{-2} mol/L 的水溶液；浓度为 1 g/L 的乳化剂 OP 水溶液。

浓度为 1.0×10^{-3} mol/L 的曙红水溶液，实验时用水稀释至所需浓度；甲醇、乙醇和丙酮(北京化工厂)； $\text{KH}_2\text{PO}_4\text{—Na}_2\text{HPO}_4$ 缓冲溶液 pH=5.2~8.0；所用试剂均为分析纯，试验用水均为二次去离子水。

3.1.2 实验方法

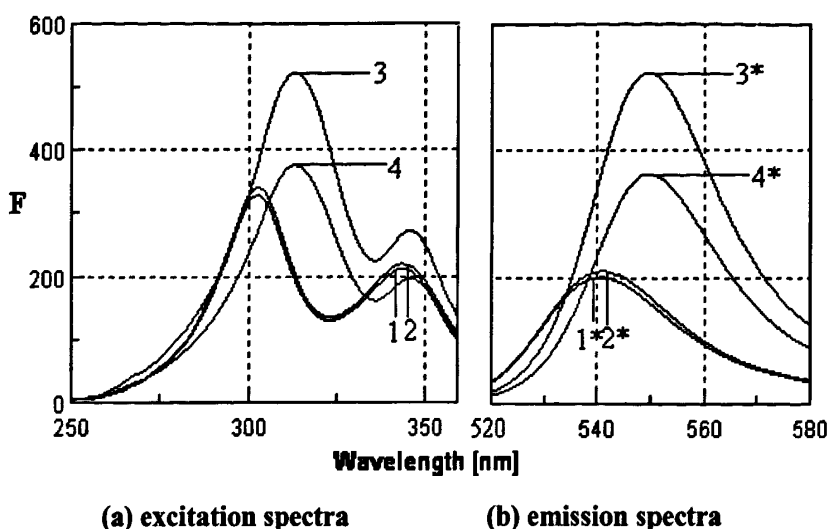
在一系列 10mL 比色管中依次加入一定量的表面活性剂，0.8 mL $\text{KH}_2\text{PO}_4\text{—Na}_2\text{HPO}_4$ pH 为 6.0 的缓冲溶液，和适量的有机磷农药辛硫磷，1.0mL 浓度为 1.0×10^{-4} mol/L 的曙红溶液，待反应完全后，在 316 nm 波长处激发，550nm 处测定发射光强度 F，激发和发射狭缝宽度均为 5nm，同时在相同条件下测其试剂空白液的荧光强度 F_0 。

3.2 结果与讨论

3.2.1 荧光光谱

如图 3-2 所示，在 pH=6.00 的介质中，曙红的最大激发波长 303 nm，最大发射波长 542nm，当加入 phoxim 后，Y 的荧光强度略有增加(曲线 2)，这说明 AO 与 phoxim 结合，使其共轭体系变大，离域 π 电子较易激发；当在 Y 溶液中加入一定浓度的 CTMAB 后，荧光强度明显增大(曲线 3)，并且激发波长红移至 316nm，发射波长为 550nm，当再加入一定浓度的 phoxim 后，发现荧光强度明显降低(曲线 4)，但峰位置并不发生改变，且在一定范围内荧光降低的程度与体系中 phoxim 浓度成正比关系，因此可用于 phoxim 的测定。在实验机理方面，我们认为，由于 CTMAB 与 phoxim 有类似的分子结构，分子结构均为：一端为极性基团，另一端为非极性基团，因此当 CTMAB 与 phoxim 共存时，它们会形成混合胶束；从结合力上讲，phoxim 与 Y 之间的结合力要远大于 CTMAB 与 Y 之间的结合力，因此在 phoxim 与 Y、CTMAB 共存时，Y 就选择性的与 phoxim 相结合；但由于 phoxim 与 CTMAB 形成混合胶束，Y 的荧光光谱就表现了胶束增敏效应的

特征，而由于 CTMAB 的胶束增敏效应远大于 phoxim 对 Y 的荧光增敏效应，所以体系的总体荧光强度随 phoxim 浓度的增加呈下降趋势。



(a) excitation spectra (b) emission spectra

图 3-2 Y、Y-phoxim、Y-CTMAB 和 Y-CTMAB-phoxim 体系的荧光光谱图

Y(1,1*);Y-phoxim(2, 2*);Y-CTMAB(3,3*);Y-CTMAB-phoxim(4, 4*)

[Y]: 1.0×10^{-5} mol/L.[CTMAB]: 4.0×10^{-4} mol/L.pH=6.00.[phoxim]:0.24mg/L(2,4,2*,4*)

3.2.2 条件优化实验

(1) 反应体系的选择

选取 Y+CTMAB、Y+SDBS、Y+OP、Y+SLS、Y+SDS 和 Y+CPB 等体系进行对比试验。试验结果表明：CTMAB 对体系的作用最为显著。因此我们选取 Y+CTMAB 体系。在该体系下，加入农药后 ΔF 值最大，灵敏度最高且最稳定。因此选择 CTMAB 为此体系的表面活性剂。

(2) 缓冲溶液及 pH 值的选择

Y 是具有较强荧光的酸性染料，有机磷农药在碱性条件下很不稳定，极易水解，因此，选择了 pH 为 6.7 的 Sørensen、Britton-Robinson、Kolthoff、Clark-Lubs、Mellvaine 等几种缓冲溶液，结果表明：缓冲对体系灵敏度影响不大，本实验选取 Sørensen 缓冲溶液。接着使用一系列 pH 为 5.2-8.0 的 Sørensen 缓冲液的不同反应体系进行试验，结果表明：在 pH 为 6.00 的反应体系中测定时(见图 3-3)， ΔF 最大且线性关系良好。

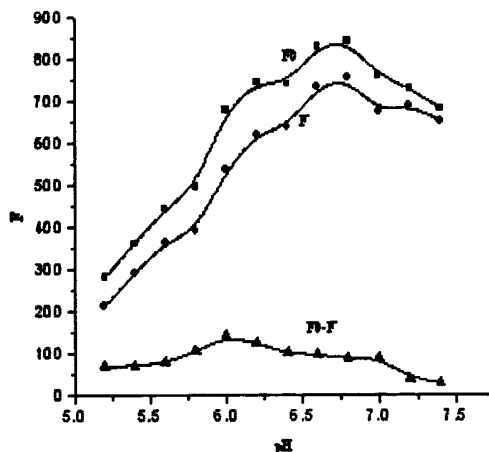


图 3-3 pH 值对体系荧光强度的影响

[Y]: 1.0×10^{-5} mol/L, [CTMAB]: 4.0×10^{-4} mol/L, [phoxim]:0.24mg/L

(3) Y 浓度的确定

固定 Sørensen、CTMAB 和农药用量考察 Y 用量，结合灵敏度和线性两个方面，本实验选 Y 浓度为 1.0×10^{-5} mol/L 为测定农药的最佳浓度。

(4) CTMAB 浓度的确定

一定浓度范围内，CTMAB 的加入使体系荧光强度升高(如图 3-4)。当 CTMAB 浓度为 4.0×10^{-4} mol/L 时灵敏度较高且线性好，故体系选择 CTMAB 浓度为 4.0×10^{-4} mol/L 为反应的最佳浓度。

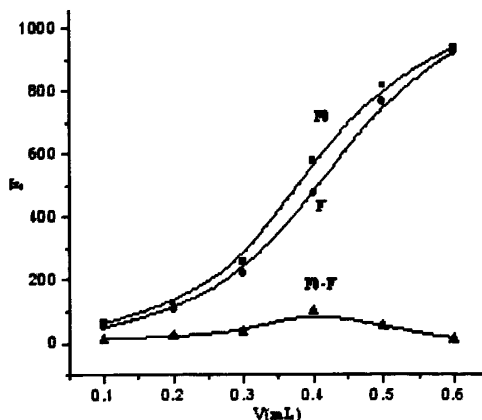


图 3-4 CTMAB 用量对体系荧光强度的影响

[Y]: 1.0×10^{-5} mol/L, [CTMAB]: 4.0×10^{-4} mol/L [phoxim]:0.24mg/L, pH=6.0

(5) 缓冲溶液用量的选择

使体系中 CTMAB、Y 和农药的浓度不变，来考察缓冲溶液用量的影响，结果发现：随着缓冲溶液用量的增大， F_0 和 F 都逐渐增大，但 ΔF 变化不大，本体系选择 0.8mL 的缓冲溶液用量。

(6) 试剂加入顺序的选择

本实验考察了 24 种试剂加入顺序对体系荧光强度的影响，结果发现：当顺序为 CTMAB+phoxim+Y+buffer， ΔF 大且体系比较稳定，本体系选择加入顺序 CTMAB+phoxim+Y+buffer 为最佳实验顺序。

(7) 反应温度和时间的影晌

固定时间来考察温度的影响，发现随着温度的升高 ΔF 基本上呈逐渐减小的趋势(见图 3-5)。在室温 18°C 时灵敏度较高且稳定，因此选取 18°C 为该反应的最佳温度。

由实验可知反应时间对体系灵敏度影响不大，故本体系选 15min 为最佳反应时间。

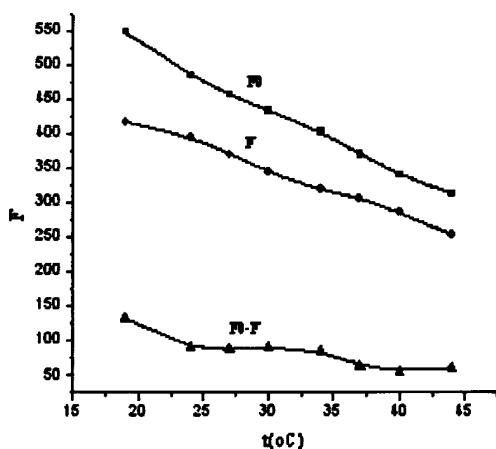


图 3-5 温度对体系荧光强度的影响

[Y]: 1.0×10^{-5} mol/L. [CTMAB]: 4.0×10^{-4} mol/L [phoxim]:0.24mg/L pH=6.0

(8) 离子强度的影响

用 0.1mol/L 的 NaCl 的加入量来试验离子强度对体系的影响(见图 3-6)。当加入大于 0.3ml 的 NaCl 以后，发现体系灵敏度越来越低几乎接近零，原因可能是由于盐效应的作用，使 phoxiom 与 Y 的结合力减弱。

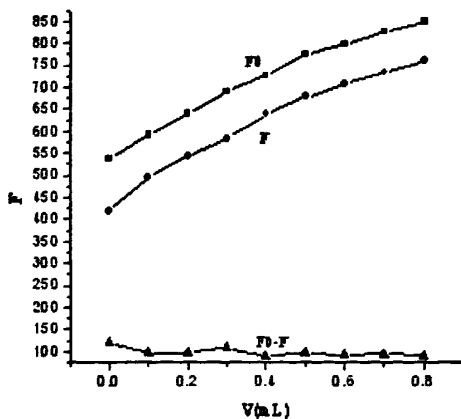


图 3-6 NaCl 浓度对体系荧光强度影响

[Y]: 1.0×10^{-5} mol/L. [CTMAB]: 4.0×10^{-4} mol/L [phoxim]:0.24mg/L pH=6.0

(9) 有机溶剂的影响

试验了农药的丙酮、甲醇和乙醇等不同有机溶剂的标准液对体系的影响。发现：农药的甲醇溶液对体系的影响最大，灵敏度高且稳定。又试验了甲醇的加入量对体系的影响(如图 3-7)，结果表明体系中甲醇的浓度越大灵敏度越低。

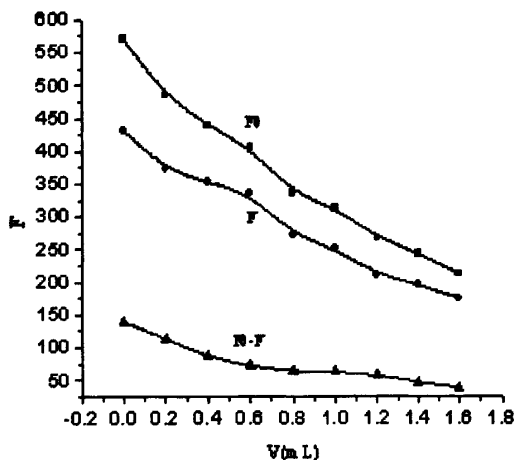


图 3-7 有机溶剂对体系荧光强度的影响

[Y]: 1.0×10^{-5} mol/L. [CTMAB]: 4.0×10^{-4} mol/L [phoxim]:0.24mg/L pH=6.0

(10) 各种农药对该体系的响应

试验了敌敌畏、辛硫磷、乙酰甲胺磷、氧乐果和敌百虫等几种有机磷农药对该体系的不同响应，且绘制了相应的工作曲线（如图 3-8）。试验结果发现：每种农药均有响应，灵敏度高线性关系也较好；还试验了杀虫单等几种非有机磷农药对该体系的响应，结果发现均无响应，因此该方法可以测定有机磷农药残留的总含量。

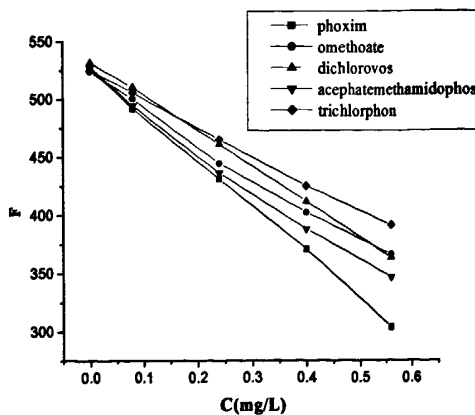


图 3-8 各种有机磷农药的工作曲线

[Y]: 1.0×10^{-5} mol/L. [CTMAB]: 4.0×10^{-4} mol/L pH=6.0. [OPPs]:0, 0.04, 0.12, 0.20, 0.28 mg/L

(11) 工作曲线

在优化实验条件下,按实验方法获得了测定辛硫磷的工作曲线(见图 3-9),线性回归方程为: $F=499.1-503.0C(\text{mg/L})$, 线性范围为 0.024~0.56mg/L, 检出限为 0.03mg/L, 相关系数为 $R=0.9996$ 。对 0.24 mg/L 的辛硫磷标液进行 11 次平行测定, 结果的平均值为 0.227 mg/L, 相对标准偏差为 1.83%。

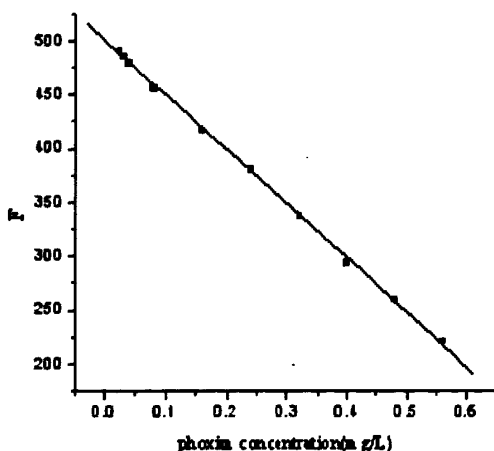


图 3-9 标准工作曲线

pH=6.0. [CTMAB]: 4.0×10^{-4} mol/L

[Y]: 1.0×10^{-5} mol/L. [phoxim]:0.024, 0.032, 0.04, 0.08, 0.16, 0.24, 0.32, 0.4, 0.48, 0.56 mg/L

(12) 干扰物质的影响

试验了20多种常见化合物和离子在该体系中对测定的影响。在相对误差 $\leq \pm 5\%$ 时, 体系中辛硫磷浓度为0.24 mg/L, 测定结果见下表3-1。

3.3 分析应用

3.3.1 样品处理

准确称取土样和小米样品各 10g 于 100mL 烧杯中(土样是根据中华人民共和国国家标准 15N 土壤、植物标准样品 GB 9838-1988 制备的, 小米经研钵研碎后过 40 目筛), 后往烧杯中加入 50mL 甲醇溶剂(土样中再加入 1.0g 无水硫酸钠), 超声波仪器振荡 50min 后, 用布氏漏斗减压抽滤, 分两次用甲醇溶剂冲洗残渣和抽滤瓶以保证提取完全, 然后将滤液用真空旋转蒸发器在 45°C 下浓缩至 5mL, 并将浓缩液转至 10mL 容量瓶中用甲醇定容待测。

3.3.2 回收率与精密度

向10.00 g土样和小米样品中分别加入phoxim标准溶液,按3.3.1中样品处理方法进行处理,然后按照3.1.2中实验方法测定样品空白和添加了phoxim标准液的样品,每个平行测定5次,结果见表3-2,回收率在93.5~100.4%之间,相对标准偏差为2.61~4.14%。按照回收率在85~112%为符合要求,90%~110%为最佳的判定依据,本实验符合农药残留分析的要求。

表3-1 共存物质的影响

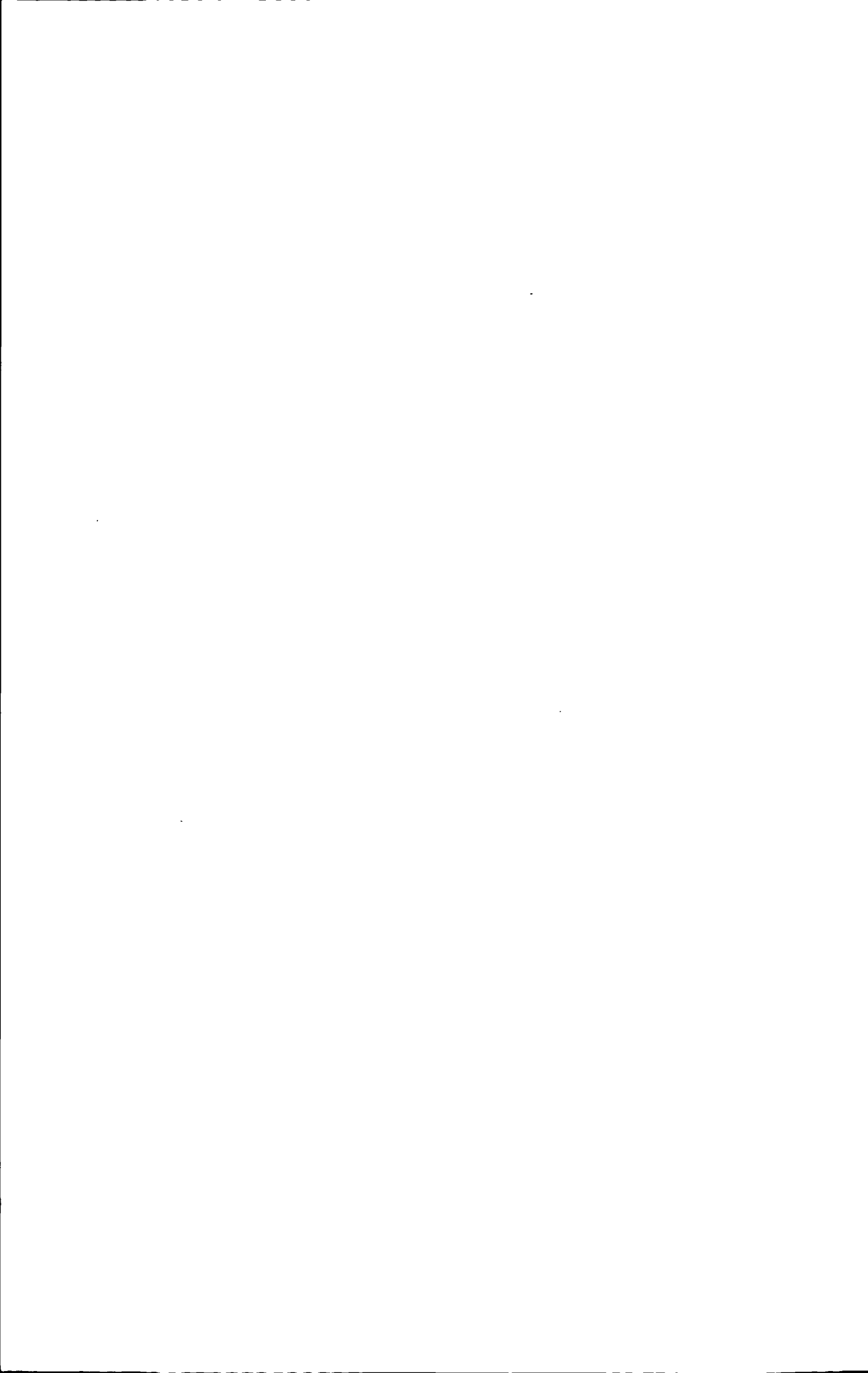
干扰物质 Foreign substance	浓度 Concentration (mg/L)	相对误差 Relative error(%)	干扰物质 Foreign substance	浓度 Concentration (mg/L)	相对误差 Relative error(%)
Hg ²⁺	0.2	-4.0%	Cu ²⁺	0.18	-5.7
Ni ²⁺	0.08	-5.2	Na ⁺	1	+5.6
K ⁺	6	-4.8	Co ²⁺	0.18	-4.2
Fe ³⁺	0.02	-4.7	Cr ³⁺	0.16	+4.0
Fe ²⁺	0.02	-5.3	Al ³⁺	0.5	-4.6
Mg ²⁺	0.2	-4.1	Ca ²⁺	0.3	-3.4
葡萄糖	3	-4.7	Ba ²⁺	0.7	-5.5
柠檬酸	4	-5.3	Sr ²⁺	0.3	-4.6
淀粉	0.4	-5.2	Pb ²⁺	0.9	+3.4
酪氨酸	35	-5.5	Ag ⁺	0.16	-5.7
维生素 C	10	-4.9	Zn ²⁺	0.6	-5.9

3.3.3 样品分析

本试验中小米样品购于新乡一超市,未检测到农药;土壤样品取自河南师范大学东区旁边的一块菜地,土样中样品测定值为0.112 mg/L,即土壤中有机磷农药含量以辛硫磷计为4.67mg/kg。

表3-2 样品分析结果

样品	平均测定值/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	加标量/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	加标样品测定 值/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	加标样品测 定平均值/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	平均回 收率/%	RSD /%
小 米	0	0.24	0.249 0.246 0.234 0.239 0.237	0.241	100.4	2.61
土 壤	0.112	0.24	0.321 0.335 0.309 0.339 0.341	0.329	93.5	4.14



第四章 荧光法快速检测有机磷农药残留总量

有机磷农药是我国使用量最大的农药，此类农药能有效地控制害虫、杂草及细菌的生长，提高农业产量，但它属于高毒性农药，大量使用会造成许多潜在的危害。为预防和处理引起的危害，及时、准确地检测有机磷农药显得尤为必要。目前我国对农药残留检测的主要手段仍然依赖气相色谱法、气相色谱-质谱联用法等大型现代分析仪器。本实验中把阴离子表面活性剂 SDBS 加入中性红溶液中后，中性红溶液的荧光强度明显增强，后又在该体系中加入有机磷农药后荧光强度又显著下降。实验发现荧光强度与有机磷农药浓度呈良好的线性关系，因此本体系可用于有机磷农药残留总量的测定。该方法解决了有机磷农药总磷分析的难点，具有简便、快捷、准确、灵敏度高等优点。

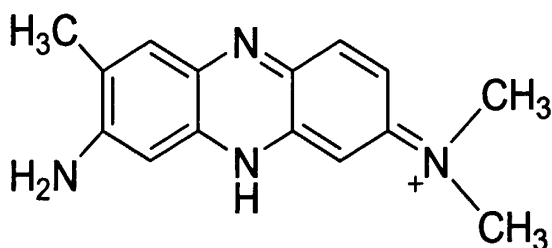


图 4-1 中性红结构式

4.1 实验部分

4.1.1 仪器与试剂

FP-6500 型荧光光谱仪(日本分光公司); TU-1900-双光束紫外-可见分光光度(北京普通分析仪器厂)

辛硫磷(phoxim)、氧乐果(omethoate)、敌敌畏(dichlorovos)、敌百虫(trichlorphon)、乙酰甲胺磷(acephate)等配制成浓度均为 800 mg/L 的甲醇溶液(冷藏保存),使用时用甲醇稀释至所需浓度;溴化十六烷基三甲基铵(CTMAB),十二烷基苯磺酸钠(SDBS),十二烷基硫酸钠(SDS),十二烷基磺酸钠(SLS),溴化十六烷基吡啶(CPB),以上均为 1.0×10^{-2} mol/L 的水溶液;浓度为 1 g/L 的乳化剂 OP 水溶液。

试验所用试剂均为分析纯,试验用水均为二次去离子水; 1.0×10^{-3} mol/L 中性红(NR),实验时用水稀释至所需浓度; pH 2.2~5.2 的 B-R 缓冲溶液;丙酮、甲醇和乙醇。

4.1.2 实验方法

在一系列 10 mL 比色管中依次加入 0.9 mL 1.0×10^{-4} mol/L 中性红, 1.2 mL pH 4.60 B-R 缓冲溶液, 一定量的表面活性剂和适量辛硫磷, 待反应完全后, 在激发波长为 565 nm, 于 604 nm 处测定发射光强度 F , 激发和发射狭缝均为 10 nm, 在相同条件下测其试剂空白液的荧光强度 F_0 。

4.2 结果与讨论

4.2.1 吸收光谱

图 4-2 为中性红在不同介质中的吸收光谱。橙黄色的 NR 溶液在 489 nm 处有一最大吸收峰(曲线 1), 加入 phoxim 后吸光度略有增大(曲线 2)。NR 溶液中加入阴离子表面活性剂 SDBS 后, 其吸光度明显增大, 最大吸收波长红移至 494 nm 处(曲线 3), 这说明了 NR 和 SDBS 之间发生了反应。在此溶液中加入 phoxim 后, 吸光度随着加入 phoxim 浓度的增大而减小(曲线 4), 这说明了 NR-SDBS 与 phoxim 之间有反应发生。

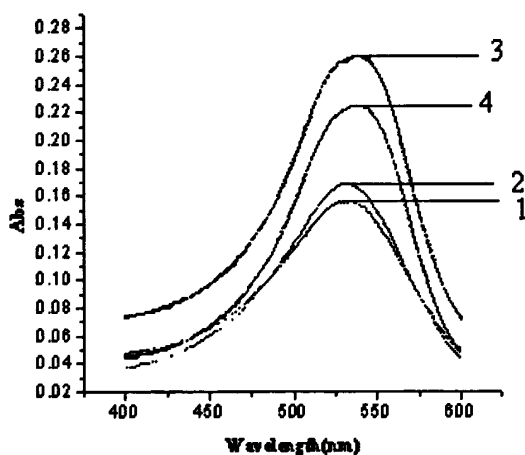


图 4-2 NR、NR+phoxim、NR+SDBS 和 NR+SDBS+phoxim 体系的吸收光谱图

- | | |
|-----------------|-----------------------------------|
| 1. NR+B-R | 2. NR+B-R+ phoxim(0.16mg/L) |
| 3. NR+B-R+ SDBS | 4. NR+B-R+ SDBS+ phoxim(0.16mg/L) |

4.2.2 荧光光谱

如图 4-3 所示, 在 pH4.60 B-R 缓冲溶液的介质中, NR 在 $\lambda_{ex}=556$ nm 处有最大吸收峰, 加入 phoxim 后, NR 的荧光强度略有增加(曲线 2、2*), 这是由于 NR 与 phoxim 络合, 使其共轭体系变大, 离域 π 电子较易激发; 当在 NR 溶液中加入一定浓度的 SDBS 后, 荧光强度明显增大(曲线 3、3*), 且 λ_{ex} 红移至 560 nm, 再加入不同浓度的 phoxim

后,发现荧光强度显著降低(曲线 4、4*),且荧光降低的程度与 phoxim 浓度在一定范围内成正比,因此我们认为该体系可用于 phoxim 的定量测定。在实验机理方面,由于 SDBS 与 phoxim 有相类似的分子结构,分子结构均为:一端为极性基团,另一端为非极性基团,所以当 SDBS 与 phoxim 共存时,它们会形成混合胶束;从结合力上讲,SDBS 与 NR 之间的结合力要远小于 NR 与 phoxim 之间的结合力,因此在 NR 与 SDBS、phoxim 共存时,NR 要选择性的与 phoxim 相结合;由于 phoxim 与 SDBS 形成混合胶束,NR 的荧光光谱则表现为胶束增敏效应特征,而由于 phoxim 对 SDBS 的胶束增敏效应要远大于 NR 的荧光增敏效应,所以体系的总体荧光强度随 phoxim 浓度的增加呈下降趋势。

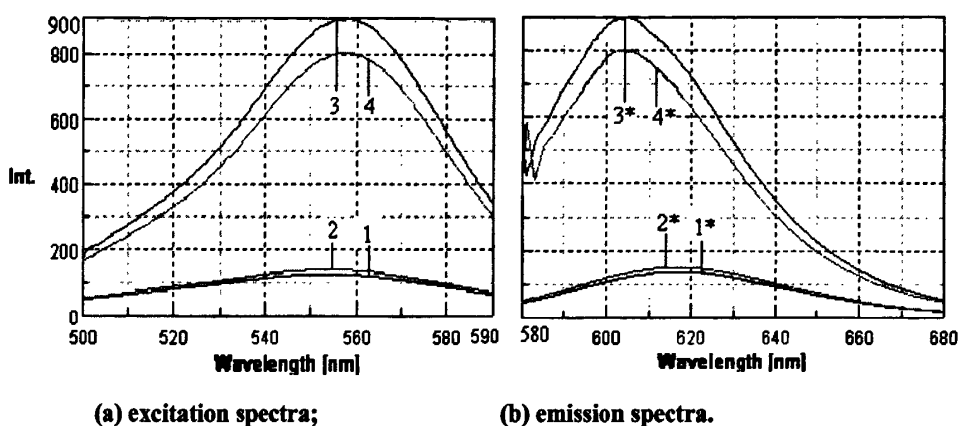


图 4-3 NR、NR+phoxim、NR+SDBS 和 NR+SDBS+phoxim 体系的荧光光谱图

- 1、1* NR+B-R 2、2* NR+B-R+ phoxim(0.16mg/L)
3、3* NR+B-R+ SDBS 4、4* NR+B-R+ SDBS+ phoxim(0.16mg/L)

4.2.3 条件优化实验

(1) 反应体系的选择 选取 NR+SDS、NR+SDBS、NR+CPB、NR+CTMAB、NR+OP 和 NR+SLS 体系进行对比实验。试验结果显示: SDBS 对体系的作用最为显著且加入农药后 ΔF 值最大($\Delta F=F_0-F$),灵敏度最高且最稳定。因此选择 SDBS 为此体系的表面活性剂。

(2) 缓冲溶液及酸度的选择 NR 是具有较强荧光的碱性染料,有机磷农药在碱性条件下很不稳定,极易水解,因此,选择了 pH 为 3.52 的 Sørensen、Britton-Robinson、Kolthoff、Clark-Lubs、Mellvaine 等几种缓冲溶液,结果表明:缓冲对体系灵敏度影响不大,本实验选取 B-R 缓冲溶液接着试验一系列 pH 为 2.2~5.2 的 B-R 缓冲液,试验表明:在 pH 为 4.60 左右时(见图 4-4), ΔF 最大且线性好,取 pH 为 4.60 的缓冲液。

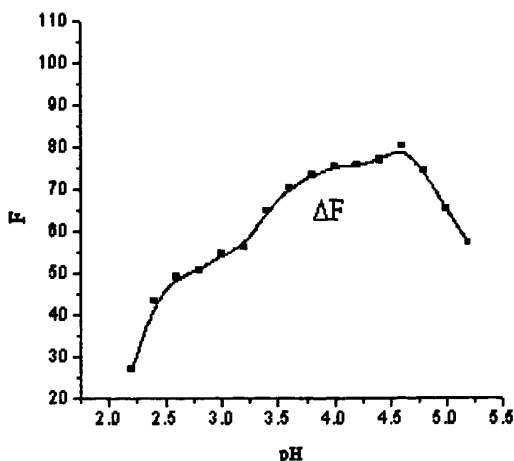


图 4-4 pH 值对体系荧光强度的影响

[NR]: 1.0×10^{-5} mol/L. [SDBS]: 1.2×10^{-3} mol/L. [phoxim]:0.16mg/L

(3) NR 浓度的确定 由实验可知, 当 NR 浓度为 9.0×10^{-6} mol/L 时测定的灵敏度最高且有很好的线性关系, 所以选 NR 浓度为 9.0×10^{-6} mol/L。

(4) SDBS 浓度的确定 SDBS 的加入使体系荧光强度升高且随着 SDBS 浓度的增大 F_0 、 F 和 ΔF 值都显著增大。但当体系 SDBS 浓度大于 1.2×10^{-3} mol/L 时, 测定灵敏度显著下降。故体系选择 SDBS 浓度为 1.2×10^{-3} mol/L。

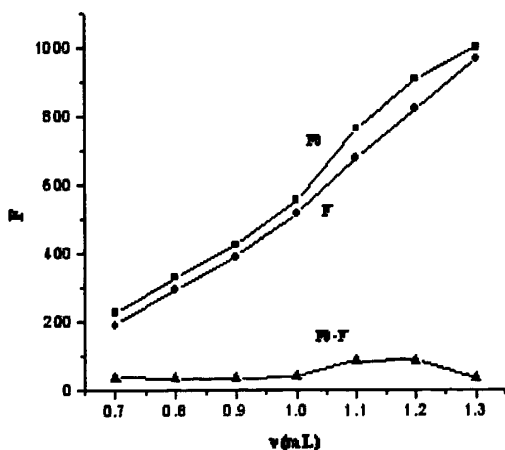


图 4-5 SDBS 用量对体系荧光强度的影响

[NR]: 9.0×10^{-6} mol/L. [phoxim]:0.16mg/L pH=4.60

(5) 缓冲溶液用量的选择 使体系中 SDBS、NR 和农药的浓度一定, 考察缓冲溶液用量的影响, 试验结果表明: 当缓冲溶液用量为 0.7~1.2 mL 时, ΔF 基本不变且线性好, 但随着缓冲用量的加大, 线性范围逐渐变宽。故本体系选择 1.0mL 的缓冲溶液。

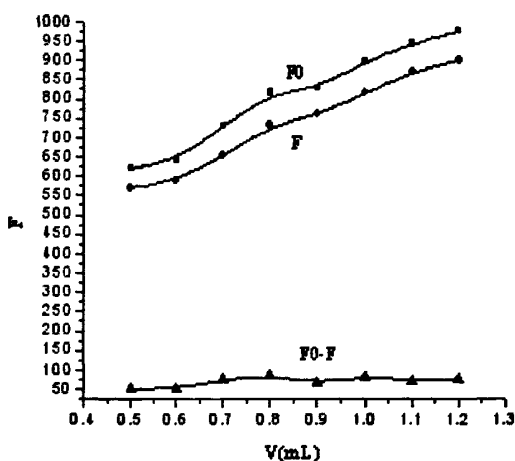


图 4-6 缓冲用量对体系荧光强度的影响

[NR]: 9.0×10^{-6} mol/L. [phoxim]:0.16mg/L [SDBS]: 1.2×10^{-3} mol/L pH=4.60 .

(6) 试剂加入顺序的选择 本实验考察了 24 种试剂加入顺序对体系荧光强度的影响, 结果发现: 当顺序为 NR+buffer+SDBS+phoxim 时体系的 ΔF 大且体系比较稳定, 本实验选择加入顺序 NR+buffer+SDBS+phoxim。

(7) 反应时间和温度的影响 固定时间来考察温度的影响, 发现随着温度的升高 F_0 和 F 都逐渐减小但 ΔF 基本不变, 也就是线性范围逐渐变窄。因此选择室温 18°C 为反应温度。在该温度下反应 15min 后体系达到稳定且在 2h 内荧光强度变化不大。

(8) 离子强度的影响 用 0.02mol/L 的 NaCl 的加入量来试验离子强度对体系的影响, 当 NaCl 加入量 $\leq 0.7\text{mL}$ 时 NaCl 浓度越大 F_0 和 F 值都增大, 但 F_0-F 值基本保持不变。当 NaCl 加入量 $> 0.7\text{mL}$ 时 F_0-F 值逐渐变小。

(9) 有机溶剂的影响 试验了农药的丙酮、甲醇和乙醇等不同有机溶剂的标准液对体系的影响。发现: 用农药的甲醇溶液对体系的影响最大, 灵敏度高且稳定。又试验了甲醇的加入量对该体系的影响(如图 4-7), 结果表明体系中甲醇的浓度越大灵敏度基本不变但线性范围会逐渐变小。

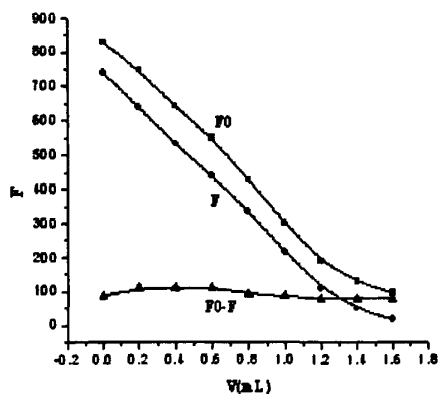


图 4-7 有机溶剂对体系荧光强度的影响

[NR]: 9.0×10^{-6} mol/L. [phoxim]:0.16mg/L [SDBS]: 1.2×10^{-3} mol/L pH=4.60

(10) 各种农药对体系的响应 试验了敌敌畏、乙酰甲胺磷、辛硫磷、氧乐果和敌百虫等几种有机磷农药对该体系的不同响应，且绘制了相应的工作曲线（如图 4-8），从图上我们可以看出每种农药均有响应，且灵敏度高线性好。因此该方法可以测定有机磷农药残留的总含量。

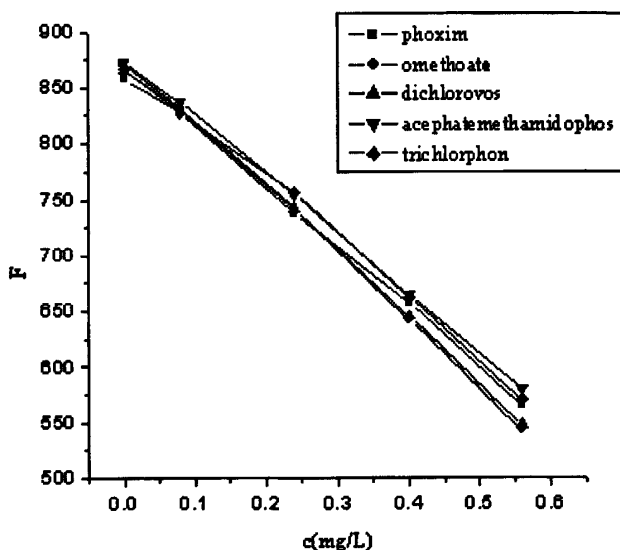


图 4-8 各种有机磷农药的工作曲线

[NR]: 9.0×10^{-6} mol/L. [SDBS]: 1.2×10^{-3} mol/L pH=4.60 [OPPs]: 0, 0.08, 0.24, 0.40, 0.56 mg/L

(11) 工作曲线 按照实验方法绘制工作曲线，线性回归方程为： $F = 844.2 - 431.0C(\text{mg/L})$ ，线性范围为 0.024~0.40mg/L，检出限为 0.014mg/L，相关系数为 $R = 0.9994$ 。对 0.16mg/L 的辛硫磷标液 11 次平行测定结果的平均值为 0.150mg/L，R.S.D 为 1.77%。

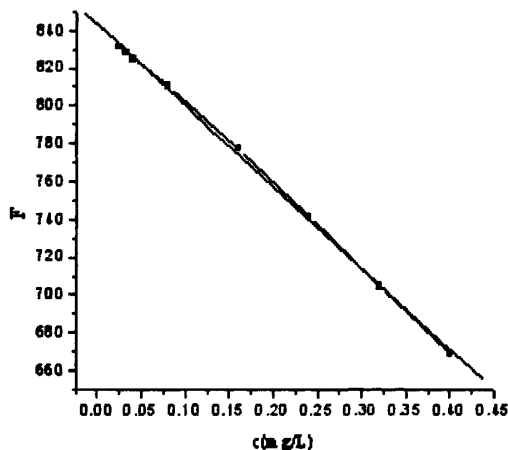


图 4-9 标准工作曲线

[NR]: 9.0×10^{-6} mol/L, [SDBS]: 1.2×10^{-3} mol/L, pH=4.60, [phoxim]:0.024,0.032,0.04,0.08,0.16,0.24,0.32,0.40 mg/L

(12) 干扰物质的影响 考察了多种常见离子和化合物对 0.16 mg/L 辛硫磷测定的影响。相对误差 $\leq \pm 5\%$ 时,测定结果见表 4-1,此外, Hg^{2+} 、 Pb^{2+} 、 NH_4^+ 、 Ag^+ 、 Ni^{2+} 、维生素 C、葡萄糖等对体系测定均影响不大。

表4-1 共存物质的影响

干扰物质 Foreign substance	浓度 Concentration (mg/L)	相对误差Relative error(%)	干扰物质 Foreign substance	浓度 Concentration (mg/L)	相对误差Relative error(%)
Ca^{2+}	0.4	5.9%	Ba^{2+}	0.7	3.8%
Fe^{2+}	0.3	-4.2%	Co^{2+}	0.06	4.3%
Sr^{2+}	0.5	5.5%	Cr^{3+}	0.18	5.4%
Zn^{2+}	0.25	5.0%	Fe^{3+}	0.06	6.0%
Mn^{2+}	0.7	4.2%	Mg^{2+}	0.2	-5.2%
K^+	4.5	4.3%	淀粉	3	+4.4%

4.3 分析应用

4.3.1 样品处理

准确称取面粉和土样(土样是根据中华人民共和国国家标准 ^{15}N 土壤、植物标准样品 GB 9838-1988 制备的)各 10g 于 100mL 烧杯中,后往烧杯中加入 50mL 甲醇(土样中加入 1.0g 无水硫酸钠),超声波仪器超声振荡 50min 后,用布氏漏斗减压抽滤,用甲醇溶剂分两次冲洗残渣和抽滤瓶以保证提取完全,然后用真空旋转蒸发器将滤液在 45

℃下浓缩至小于 5mL, 并将浓缩液转至 10mL 容量瓶中用甲醇定容待测。

4.3.2 回收率、精密度与样品分析

向 10.00 g 面粉和土壤中分别加入 phoxim 标液, 按 4.3.1 中样品处理方法进行处理, 按 4.1.2 中实验方法测定样品空白和添加了 phoxim 标准液的样品, 每个平行测定 5 次, 见表 4-2, 回收率在 92.0~100.5%之间, 相对标准偏差为 1.08~1.81%。符合农药残留分析的要求。本实验中面粉未检测到农药; 而土样中样品测定值为 0.128mg/L, 即土壤中有机磷农药含量以辛硫磷计为 5.26mg/kg, 土壤样取自河南师范大学附近菜地, 可能由于长期使用化肥农药, 故现状值含磷量较大。

表4-2 样品测定结果

样品	测定值/ mg·L ⁻¹	加标量/ mg·L ⁻¹	加标后测得值/mg·L ⁻¹				加标后测定平均 值/mg·L ⁻¹	加标回收 率/%	RSD /%
面样	0	0.16	0.160	0.158	0.163	0.159	0.161	100.5	1.81
			0.165						
土壤	0.128	0.16	0.261	0.265	0.268	0.263	0.265	92.0	1.08
			0.267						

第五章 荧光法快速检测辛硫磷残留量

辛硫磷是世界上生产和销售最大的杀虫剂之一，我国年生产量就达万吨以上。它作为有机磷农药的替代品，被广泛应用于防治水稻、果蔬、茶等作物害虫。因此，为预防和处理它引起的种种危害，及时、准确地检测辛硫磷农药显得尤为必要。目前我国对辛硫磷残留检测的主要手段仍然依赖气相色谱法^[131]、液质联用法^[132]、高效液相色谱法^[133-134]、胆碱酯酶抑制法^[135]等大型现代分析仪器。本试验中，加入非离子表面活性剂吐温-80后，达旦黄溶液的荧光强度明显增强，后在该体系中又加入农药辛硫磷后体系荧光强度又显著下降。试验发现：荧光强度与该体系中辛硫磷浓度呈良好的线性关系，因此本体系可用于辛硫磷残留量的测定。该方法解决了辛硫磷分析的难点，具有简便、快捷、准确、灵敏度高等优点。

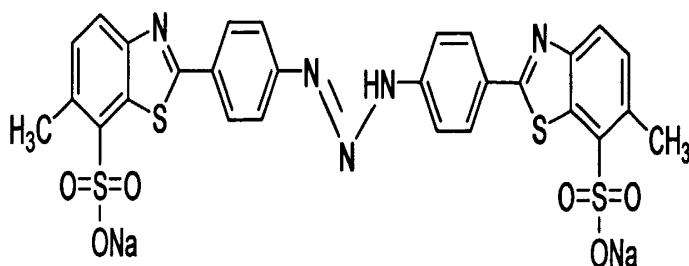


图 5-1 达旦黄分子结构式

5.1 实验部分

5.1.1 仪器与试剂

FP-6500 型荧光光谱仪(日本分光公司); TU-1900-双光束紫外-可见分光光度(北京普通分析仪器厂)。

辛硫磷(phoxim)、敌敌畏(dichlorovos)、氧乐果(omethoate)、敌百虫(trichlorphon)、乙酰甲胺磷(acephate)等配制成浓度均为 800 mg/L 的甲醇溶液(冷藏保存),使用时用甲醇稀释至所需浓度;十二烷基苯磺酸钠(SDBS),溴化十六烷基三甲基铵(CTMAB),溴化十六烷基吡啶(CPB),十二烷基磺酸钠(SLS),十二烷基硫酸钠(SDS),浓度均为 1.0×10^{-2} mol/L 的水溶液; 1g/L OP 的水溶液;吐温-80,浓度为 0.5% (体积分数)的水溶液。达旦黄的水溶液: 1.0×10^{-3} mol/L,使用时用水稀释至所需浓度; 所用试剂均为

分析纯, 试验用水均为二次去离子水; $\text{KH}_2\text{PO}_4\text{—Na}_2\text{HPO}_4$ 缓冲溶液 $\text{pH}=5.2\sim 8.2$ 。

5.1.2 实验方法

在一系列 10mL 比色管中依次加入 1.0mL 浓度为 $1.0\times 10^{-4}\text{mol/L}$ 的达旦黄溶液, 适量的辛硫磷农药, 一定量的表面活性剂和 0.7 mL $\text{KH}_2\text{PO}_4\text{—Na}_2\text{HPO}_4$ pH 6.6 的 Sørensen 缓冲溶液, 待反应完全后, 在 412 nm 波长处激发, 于 460nm 处测定发射光强度 F , 狭缝宽度均为 10nm, 在同条件下测其试剂空白液的荧光强度 F_0 。

5.2 结果与讨论

5.2.1 光谱分析

图 5-2 为达旦黄与辛硫磷相互作用的吸收光谱。由图可知达旦黄分别在 340nm 和 418nm 有吸收峰, 加入表面活性剂吐温-80 后体系在 418nm 处的吸收峰蓝移至 412nm (见曲线 3、4), 340nm 处的峰位不变。取 412nm 为激发波长, 激发和发射狭缝宽度均为 10nm, 做其荧光光谱 (见图 5-3), 灵敏度高、线性好且体系稳定。故本实验选 412nm 为体系的最佳激发波长

如图 5-3 所示, 在 $\text{pH}=6.6$ 的介质中, 在达旦黄溶液中加入 phoxim 后, 在 $\lambda_{\text{ex}}=412$ nm, $\lambda_{\text{em}}=460$ nm 下, TY 的荧光强度略有增加(曲线 2、3), 与曲线 1 基本不能区分, 这说明 TY 与 phoxim 结合, 使其共轭体系变大, 离域 π 电子较易激发; 当在 TY 溶液中加入一定浓度的吐温-80 后, 荧光强度明显增大(曲线 4), 当再加入一定浓度的 phoxim 后, 发现荧光强度明显降低(曲线 5、6), 但峰位置并不发生改变, 且荧光降低的程度与 phoxim 浓度在一定范围内成正比, 因此可用于 phoxim 的测定。由曲线 1、2、3 之差值和曲线 4、5、6 之差值相比较可见, 吐温-80 的加入明显的提高了其复合物的荧光强度, 使灵敏度有较大的提高。

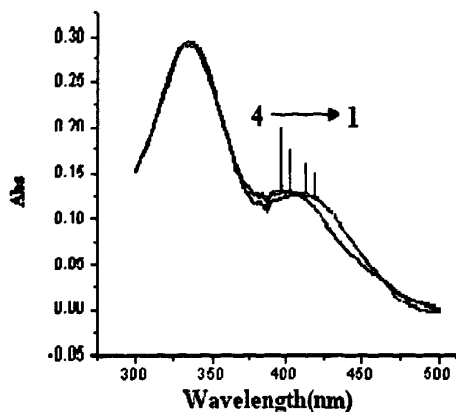


图 5-2 吸收光谱

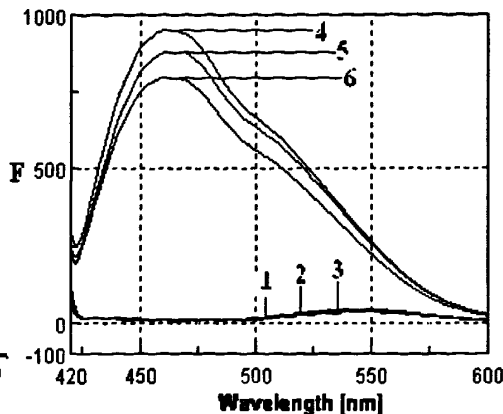


图 5-3 发射光谱

- | | |
|--------------------------------|--------------------------------|
| 1 达旦黄 | 4 达旦黄+吐温-80 |
| 2 达旦黄+phoxim (0.24mg/L) | 5 达旦黄+吐温-80+ phoxim (0.24mg/L) |
| 3 达旦黄+phoxim (0.48mg/L) | 6 达旦黄+吐温-80+ phoxim (0.48mg/L) |
| 3 达旦黄+吐温-80 | |
| 4 达旦黄+吐温-80+ phoxim (0.24mg/L) | |

5.2.2 条件优化实验

(1) 反应体系的选择

选取 TY+CTMAB、TY+SDBS、TY+CPB、TY+SLS、TY+SDS、TY+OP 和 TY+吐温 80 等各体系进行对比试验。试验结果发现：吐温 80 对该体系的影响最大。所以我们将以 TY+吐温 80 体系来进行试验测定，加入辛硫磷后 ΔF 值最大，灵敏度最高且最稳定。故选取 TY+吐温 80 反应体系。

(2) 缓冲溶液及 pH 值的选择

辛硫磷在碱性条件下很不稳定，极易水解，因此，选择了 pH 为 6.0 的 Sørensen、Britton-Robinson、Kolthoff、Clark-Lubs、Mellvaine、Walpole 等几种缓冲溶液，结果表明：缓冲对体系灵敏度影响不大，本实验选取 Sørensen 缓冲溶液。接着使用一系列 pH 为 5.2~8.2 的 Sørensen 缓冲溶液的不同反应体系进行试验。试验结果表明：在 pH 为 6.60~7.2 时(见图 5-4)， ΔF 最大且线性关系良好。

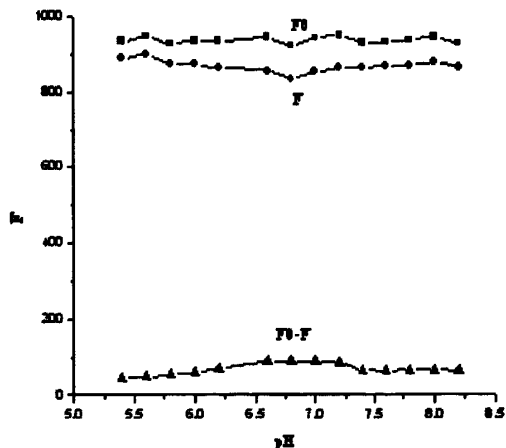


图 5-4 pH 值对体系荧光强度的影响

[TY]: 1.0×10^{-5} mol/L, [吐温-80]:0.04%(体积分数), [phoxim]:0.24mg/L

(3) TY 浓度的确定

使体系中 Sφrensen、吐温-80 和农药的浓度不变，来考察 TY 用量的影响，结合灵敏度 and 线性两个方面，本实验选 TY 浓度为 1.0×10^{-5} mol/L 为测定农药的最佳浓度，如图 5-5 所示。

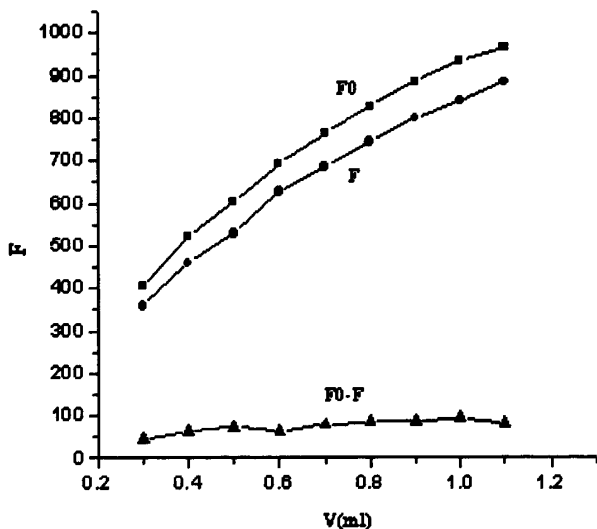


图 5-5 TY 浓度对体系荧光强度的影响

[吐温-80]:0.04%(体积分数), [phoxim]:0.24mg/L, pH=6.60

(4) 吐温-80 浓度的确定

一定浓度范围内，吐温-80 的加入使体系荧光强度升高。当吐温-80 加入量为 0.6~0.8mL 时灵敏度较高且线性好，故体系选择加入 0.7mL 的吐温-80 即浓度为 0.035%。

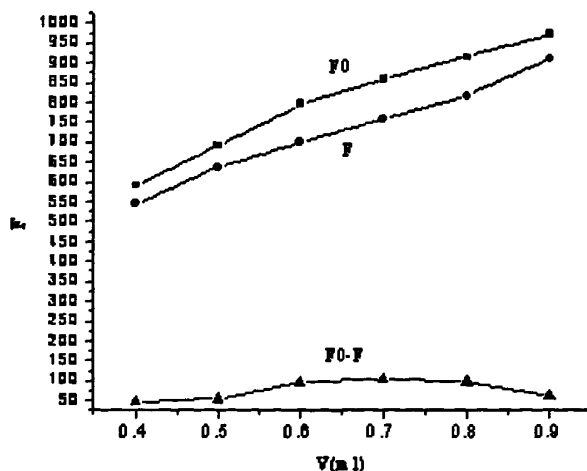


图 5-6 吐温-80 浓度对体系荧光强度的影响

[TY]: 1.0×10^{-5} mol/L, [phoxim]:0.24mg/L, pH=6.60

(5) 缓冲溶液用量的选择

使体系中吐温-80、TY 和辛硫磷的浓度不变，来考察缓冲溶液用量的影响，结果发现：缓冲用量在 0.6~1.2mL 之间时， ΔF 基本无变化，本体系选择 0.7mL 的缓冲溶液用量。

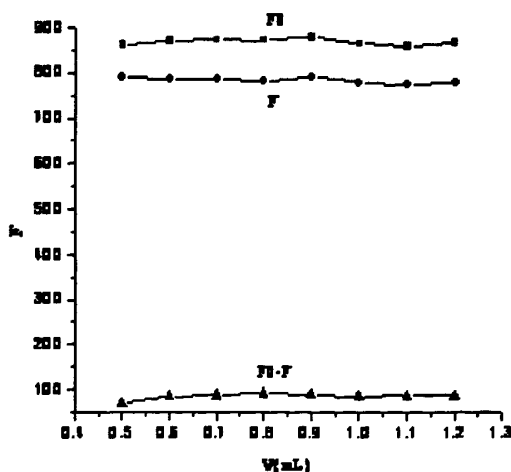


图 5-7 缓冲用量对体系荧光强度的影响

[TY]: 1.0×10^{-5} mol/L, [吐温-80]:0.035% [phoxim]:0.24mg/L, pH=6.60

(6) 试剂加入顺序的选择

本实验考察了 24 种试剂加入顺序对体系荧光强度的影响，结果发现：当顺序为 TY+phoxim +吐温-80+buffer, ΔF 大且体系比较稳定，本体系选择加入顺序 TY+phoxim +吐温-80+buffer 为最佳实验顺序。

(7) 反应温度和时间的的影响

固定时间来考察温度的影响,发现随着温度的升高 ΔF 基本上呈逐渐减小的趋势。在室温 19°C 时灵敏度较高且稳定,因此选取 19°C 为该反应的最佳温度。

由实验可知反应时间对体系灵敏度影响不大,故本体系选 15min 为最佳反应时间。

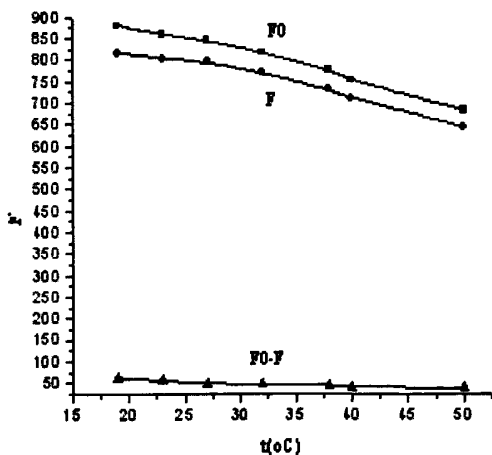


图 5-8 温度对体系荧光强度的影响

[TY]: 1.0×10^{-5} mol/L. [吐温-80]:0.035% [phoxim]:0.24mg/L.pH=6.60

(8) 有机溶剂的影响

试验了农药的丙酮、甲醇和乙醇等不同有机溶剂的标准液对体系的影响。发现:用农药的甲醇溶液对体系的影响最大,灵敏度高且稳定。又试验了体系中甲醇的浓度对体系的影响,结果表明甲醇在该体系中的浓度对其灵敏度影响不大,但却使体系的检测范围逐渐变窄。

(9) 各种农药对该体系的响应

试验了辛硫磷、乙酰甲胺磷、敌敌畏、氧乐果和敌百虫等几种有机磷农药对该体系的响应情况。试验结果发现:除辛硫磷外其他农药均无响应,因此该方法可以测定辛硫磷的残留量。

(10) 工作曲线

按照实验方法绘制工作曲线(见图 5-9),线性回归方程为: $F=899.0-299.4C(\text{mg/L})$, 检出限为 0.031mg/L , 线性范围为 $0\sim 0.72\text{mg/L}$, 相关系数为 $R=0.9996$ 。对 0.24mg/L 的辛硫磷标液进行 11 次平行测定,测定结果的平均值为 0.242mg/L , R.S.D 为 1.83% 。

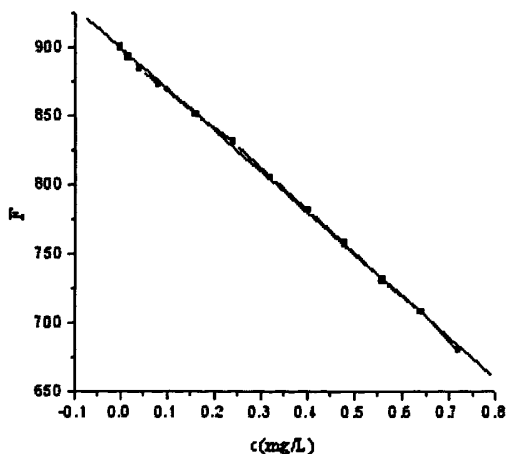


图 5-9 标准工作曲线

pH=6.6. [吐温-80]:0.035% [TY]: 1.0×10^{-5} mol/L

[phoxim]:0, 0.016, 0.04, 0.08, 0.16, 0.24, 0.32, 0.4, 0.48, 0.56, 0.64, 0.72 mg/L

(11) 干扰物质的影响

用0.24 mg/L的辛硫磷来试验氨基酸、常见金属离子及葡萄糖等物质对测定的影响。结果表明， Fe^{3+} 0.16 mg/L， Ag^+ 0.36 mg/L等不干扰测定。

5.3 分析应用

5.3.1 样品处理

准确称取土样和小米样品各 10g 于 100mL 烧杯中（土样是根据中华人民共和国国家标准 15N 土壤、植物标准样品 GB 9838—1988 制备的，小米经研钵研碎后过 40 目筛），后往烧杯中加入 50mL 甲醇（土样中再加入 1.0g 无水硫酸钠），超声波仪器超声振荡 50min 后，用布氏漏斗减压抽滤，用甲醇溶剂分两次冲洗残渣和抽滤瓶以保证提取完全，然后用真空旋转蒸发器将滤液在 45℃ 下浓缩，并将浓缩液转至 10mL 容量瓶中用甲醇定容待测。

5.3.2 精密度与回收率

向 10.00 g 小米和土壤中分别加入 phoxim 标准溶液，按照 5.3.1 中样品处理方法进行操作，后在实验条件下，按 5.1.2 中实验方法测定样品空白和添加了 phoxim 标准液的样品，各平行测定 5 次，结果见表 5-1，回收率在 93.3~98.0% 之间，相对标准偏差为 1.65~2.58%。按照回收率在 85~112% 为符合要求，90%~110% 为最佳的判定依据，本实验符合农药残留分析的要求。

5.3.3 样品分析

本试验中小米样品购于新乡一超市，未检测到农药；土壤样品取自河南师范大学东区旁边的一块菜地，土样中样品测定值为0.063 mg/L，即土壤中有机磷农药含量以辛硫磷计为2.63mg/kg。

表5-1 样品分析结果

样 品	平均测定 值/mg·L ⁻¹	加标量/ mg·L ⁻¹	样品测定值/ mg·L ⁻¹	加标样品测 定平均值/ mg·L ⁻¹	加标平均回 收率/%	RSD /%
小 米	0	0.24	0.228 0.227 0.219 0.222 0.223	0.224	93.3	1.65
土 壤	0.063	0.24	0.287 0.307 0.294 0.296 0.302	0.297	98.0	2.58

第六章 总结与展望

有机磷农药(OPPs) 广泛应用于农业、工业、医药等领域, 具有广谱、高效、品种多和残毒期短等许多特点, 因此是世界上生产和使用最多的农药品种。但绝大多数有机磷农药具有很强的毒性, 经过皮肤、呼吸以及肠胃吸收等途径进入机体会引起严重的疾病, 并引起环境、食品污染等问题。因此, 要预防和处理有机磷农药引起的种种危害, 建立测定有机磷农药残留量的分析方法对环境科学、生命科学都具有十分重要的实际意义和使用价值。

目前, 报道的检测有机磷的方法有色谱法、光谱法、波谱法、酶抑制法、试纸法技术等。另外, 还有经典的化学比色法、薄层分析法、免疫法等。检测农药残留最精确和常规的方法是色谱法, 但是色谱法仪器昂贵, 操作繁琐, 需要专业人员进行操作, 不适合在基层进行推广。为了适应市场的需求, 各国都在需要不断探索快速、简便、安全、可靠的农药残留检测方法。

荧光分析法是一种快速、简便、灵敏度高的分析方法, 已被广泛应用于生物、化学、医药、环保等方面, 但用于检测农药残留的报道却不多。本文尝试探索了几种荧光探针用于有机磷农药残留量的检测:

(1) 在pH 6.20的 $\text{KH}_2\text{PO}_4\text{—Na}_2\text{HPO}_4$ 缓冲溶液中, 吡啶橙(AO)与一定浓度的十二烷基苯磺酸(SDBS)发生荧光增强反应, 当在该体系中加入有机磷农药后, 在 $\lambda_{\text{ex}}=494\text{ nm}$ 处荧光强度明显下降, 其降低程度与有机磷农药的加入量呈良好的线性关系, 线性范围和检出限分别为0.020~0.28 mg/L、0.020mg/L。据此建立了测定有机磷农药残留总量的新方法。该方法用于大米和土壤中有机磷农药残留总量的检测, 回收率92.1~96.8%, R.S.D在2.8~4.3%之间, 结果满意。

(2) 在pH为6.0的 $\text{KH}_2\text{PO}_4\text{—Na}_2\text{HPO}_4$ (Sørensen)缓冲溶液中, 一定浓度的溴化十六烷基三甲基铵(CTMAB)与曙红(Y)反应, 使其荧光强度剧增, 当在Y-CTMAB中加入有机磷农药后, 溶液在激发波长316nm, 发射波长550nm处体系的荧光强度明显降低, 且降低程度与有机磷农药的加入量呈线性关系。在优化的试验条件下, 线性范围为0.024~0.56 mg/L, 检出限为0.030mg/L。该方法已用于小米和土壤中有机磷农药残留总量的检测, 回收率在90.4~100.4%之间, 相对标准偏差在2.61%~4.14%。

(3) 在pH为4.60的B-R缓冲溶液中, 中性红(NR)与一定浓度的十二烷基苯磺酸钠

(SDBS)发生荧光增强反应,在该体系中加入有机磷农药后,在激发波长560nm,发射波长604nm处体系的荧光强度明显降低,且降低程度与有机磷农药的加入量呈良好的线性关系,其线性范围和检出限分别为0.024~0.40mg/L, 0.014mg/L。据此建立了测定有机磷农药残留总量的新方法。该方法已用于面粉和土壤中有机磷农药残留总量的检测,回收率在92.0~100.5%之间,相对标准偏差在1.08~1.81%之间,结果满意。

(4) 在 pH 6.6 的 $\text{KH}_2\text{PO}_4\text{—Na}_2\text{HPO}_4$ (Sørensen)缓冲溶液中,达旦黄(TY)与一定浓度的吐温-80 发生荧光增强反应,当在该体系中加入辛硫磷农药后,在 $\lambda_{\text{ex}}=412\text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}}=460\text{ nm}$ 处荧光强度明显降低,且降低程度与辛硫磷的加入量呈良好的线性关系,线性范围和检出限分别是 0~0.72 mg/L, 0.031mg/L。据此建立了测定辛硫磷残留量的新方法。该方法已用于小米和土壤中辛硫磷残留的检测,回收率在 93.3~98.0%之间,R.S.D 在 1.65~2.58%之间,结果满意。

以上所做的内容为进一步的有机磷农药残留的检测提供了依据。本课题设备简单、方法简单、成本低廉等优点。但还存在不少需要解决的问题,因此,希望在今后的研究中加强以下几个方面的工作:

(1) 需要在样品前处理方面做进一步的完善。最好向着固相萃取、固相微萃取等样品前处理技术与荧光分析技术相结合的方向发展。

(2) 本文针对具体的荧光光谱和紫外光谱,对其机理进行了初步的探讨,因此,对其机理还应该做进一步深入研究。

参考文献

- [1] 朱行. 今后 20 年世界粮食形势展望[J]. 中国食物与营养, 2002, (3):11-13.
- [2] 闫万明, 姜益群. 对有机磷农药一些问题的研讨[J]. 内蒙古石油化工, 2001, 27(1): 52-54.
- [3] 王朴, 谭向勇. 世界农药市场及状况及中国应对措施分析[J]. 农业经济问题, 2002, (8): 61-63.
- [4] 黄雁, 郭中英. 有机磷农药检测纸片的研制. 广州医学院学报, 1994, 22(2):65-67.
- [5] 李书谦, 路磊, 陈福生. 果蔬中有机磷类农药残留快速检测技术研究. 湖北农业科学. 2004, 4:58-59.
- [6] Ray D E. Pesticide neurotoxicity in Europe: Real risks and perceived risks [J]. Neurotoxicol.1999,21 (1-2): 219 - 221
- [7] 赵建庄, 康国瑞. 快速测定果蔬中农药残留量的方法研究[J]. 农业环境保护, 2002, 21 (1) :70-71.
- [8] Karalliedde-L, Wheeler-H, Maclehorse-R, Murray-V. Possible immediate and long-term health effects following exposure to chemical warfare agents.Public-Health.2000, Jul, 114 (4): 238 - 48.
- [9] 纽伟民. 有机磷农药检测方法综述[J]. 南京:江苏食品与发酵, 2001, 3(1):58-61.
- [10] 康天放, 何颖. 酶抑制法快速检测有机磷农药残留方法的研究[M]. 北京工业大学, 2005.
- [11] 纽伟民, 赵晓联, 赵春城. 有机磷农药检测方法综述. 江苏食品与发酵. 2001,1:28-30.
- [12] Nutley B P, Cocker J. Biological monitoring of workers occupationally exposed to organophosphorus pesticides. Pestie Sei.1993,38: 315 - 322.
- [13] Spear R C, Poppendorf W J, Spenser W F, et al. Worker poisonings due to paraoxon residues[J]. J Occup Med. 1977,19 (6):411 - 414.
- [14] 高晓辉, 朱光艳. 蔬菜上有机磷和氨基甲酸酯类农药残留快速检测方法[S]. 北京:农业行业标准, 2001,25-28.
- [15] 仲维科. 分析化学[M], 北京:高等教育出版社, 2000, 28(7):904-910.
- [16] 郭永泽, 张玉婷, 刘凤来. 当前农药残留分析技术及发展趋势[J]. 天津农业科学, 2002, 12(8): 22-25.
- [17] 张友松, 徐峰, 杜少容. 杀菌剂噻菌灵在香菇上残留量测定[J]. 农药, 1996, 35(5): 34.
- [18] 向仕学, 谢碧俊, 方亚群等. 气相色谱法测定大米中稻瘟灵残留量[J]. 中国食品卫生杂志, 2001, 13(6): 22-23.
- [19] 庄无忌, 周昱. 毛细管气相色谱法测定果蔬中 20 种有机磷农药残留量[J]. 色谱, 1994, 12(3): 202-203.
- [20] 文礼章, 潘桐, 陈礼年等. 溴氰菊酯在烟叶上残留动态初步研究[J]. 农药, 1989, 28(4):32-33.
- [21] 李攻科, 何小青, 熊国华等. 用微波消解气相色谱法测定鱼肉中的有机氯农药[J]. 分析测试学

- 报, 1999, 18(4): 5-8.
- [22] 杨云, 李攻科. 土壤中痕量水胺硫磷的微波辅助萃取-固相微萃取-GC-MS法测定[J]. 分析测试学报, 2003, 22(4): 13-16.
- [23] 戴廷灿, 倪永年, 卢普滨等. 我国农药残留检测技术现状[J]. 农药, 2004, 43(9): 389-393.
- [24] Motohashi Noboru, Nagashima Hideo, Párkányi Cyril. SuPercritical fluid extraction for the analysis of Pesticide residues in miscellaneous samples[J]. Journal of Biochemical and Biophysical Methods, 2000, 43 (1-3): 313 - 328.
- [25] Kreuzig Robert, Koinecke Andrea, Bahadir Mufit. Use of supercritical fluid extraction in the analysis of pesticides in soil[J]. Journal of Biochemical and Biophysical Methods, 2000, 43 (1-3): 403 - 409.
- [26] 阮长青, 叶非. 超临界流体萃取技术在农药残留分析中的应用进展[J]. 农药科学与管理, 2001, 22(4): 20-22.
- [27] 刘晓金, 钟国华, 胡美英等. 超临界流体技术在农药研究中的应用[J]. 精细化工, 2004, 21(9): 679-683.
- [28] 戴建昌. 超临界萃取技术在农药残留分析中的应用研究进展[J]. 农药学报, 2002, 4(3): 6-13.
- [29] 李庆民, 张立军. 鲜人参中有机农药六六六的检测[J]. 中草药, 1994, 25(3): 163.
- [30] 张坤华. 小麦中沙螟硫磷的气相色谱分析[J]. 农药, 1992, 31(6): 35.
- [31] 鲍伦军. 食品中农药多残留分析[J]. 科技兴检, 2003, (1): 18-20.
- [32] 王洋. 蔬菜中有机氯、有机磷残留的测定方法[J]. 武汉食品工业学院学报, 1997, (2): 18-20.
- [33] 赵岚, 樊德方. 白芍上敌百虫残留量的研究[J]. 农药, 1996, 35(9): 26-27.
- [34] 汪锡灿, 周素娣, 盛娟芬等. 中成药中有机氯农药残留量的GC法测定[J]. 中国药科大学学报, 1996, 27(1): 32-35.
- [35] 吴玉杰, 黄志强, 马铭等. 气相色谱法测定芥头中甲胺磷农药残留量[J]. 光谱实验室, 20
- [36] 吴华. 固相萃取技术及其在环境分析中的应用[J]. 现代仪器, 2005, (1): 28-29.
- [37] 王丽平. 固相萃取技术在环境分析中的应用[J]. 中国科技信息, 2005, (7): 9.
- [38] 江腾辉, 鞠荣, 徐汉虹. 固相萃取技术在农药残留分析中的应用[J]. 农药, 2004, 43(10): 463-466.
- [39] 吴小毛, 方华, 王晓等. 固相萃取-毛细管气相色谱法测定蔬菜、土壤和水中的毒死蜱残留量[J]. 环境污染与防治, 2005, 27(2): 142-144.
- [40] 海云, 孔祥虹, 李建华等. 固相萃取-高效液相色谱法测定辣椒中甲基硫菌灵的残留量[J]. 色谱, 2005, 23(3): 319.
- [41] 李樱, 储晓刚, 仲维科等. 凝胶渗透色谱和固相萃取净化-气相色谱分类组合法测定糙米中的残留农药[J]. 分析化学, 2004, 32(10): 1325-1328.
- [42] 刘长武, 刘潇威, 翟广书等. 固相萃取-高效液相色谱法测定蔬菜、水果中的氨基甲酸酯类杀虫剂及其代谢物残留[J]. 色谱, 2003, 21(3): 255-257.
- [43] 龙苏, 周毅刚, 王晓春等. 固相萃取气相色谱法测定大米中多种有机磷农药残留量[J]. 实用预

- 防医学, 2001, 8(5): 341-342.
- [44] Stajnbaher Darinka, Zupancic-Krajc, Lucija. Multiresidue method for determination of 90 pesticides in fresh fruits and vegetables using solid phase extraction and gas chromatography-mass spectrometry[J]. *Journal of Chromatography A*, 2003, 1015 (1-2): 185 - 198.
- [45] 任晋, 黄翠玲, 赵国栋等. 固相萃取-高效液相色谱-质谱联机在线分析水中痕量除草剂[J]. *分析化学*, 2001, 29(8): 876-880.
- [46] 周芳, 孙成, 钟明等. 固相萃取毛细管气相色谱法分析水中有机磷农药残留[J]. *环境污染与防治*, 2005, 27(2): 151-153.
- [47] 任丽萍, 田芹, 刘丰茂等. 用固相萃取和气相色谱技术测定环境水体中痕量农药[J]. *中国农业大学学报*, 2004, 9(2): 93-96.
- [48] 穆肃, 刘雯. 固相萃取气相色谱法测定水中痕量六六六和滴滴涕[J]. *环境监测管理与技术*, 2004, 16(5): 25-26.
- [49] 朱静, 周欣, 付春梅等. 固相萃取-气相色谱/质谱联用测定环境水中噻唑硫磷农药残留[J]. *色谱*, 2004, 22(6): 655-657.
- [50] 张晓晖. 固相萃取气相色谱法测定水中六六六和滴滴涕[J]. *海峡预防医学杂志*, 2004, 10(6): 38-39.
- [51] 梁定鸿, 葛红海, 叶惠黎. 固相萃取气相色谱法测定水中的溴氟菊酯[J]. *化学工程师*, 2003, (2): 29-30.
- [52] Fangshi Li, Dieter Martens, Antonius Kettrup, et al. Determination of Sixteen Phenylurea Herbicides in Water by High Performance Liquid Chromatography and Solid phase Extraction[J]. *Chinese journal of Chromatography*, 2001, 19 (6): 534 - 537.
- [53] Brito N M, Navickiene S, Polese L, et al. Determination of pesticide residues in coconut water by liquid-liquid extraction and gas chromatography with electron-capture plus thermionic specific detection and solid phase extraction and high-performance liquid chromatography with ultraviolet detection[J]. *Journal of Chromatography A*, 2002, 957 (2): 201 - 209.
- [54] El-Kabbany S, Rashed MM, Zayed MA. Monitoring of the pesticide levels in some water supplies and agricultural land[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2000, 71 (1): 11 - 21.
- [55] 冯翠玲, 周永新, 吴鹤松等. 血浆中有机磷农药的固相萃取-气相色谱法定[J]. *分析测试学报*, 2001, 20(3): 78-81.
- [56] 朱九生, 乔雄梧, 秦曙等. 固相萃取净化气相色谱法快速测定土壤中的氯氟菊酯残留[J]. *环境化学*, 1997, 16(2): 116-118.
- [57] 严浩英, 鲁长豪, 苏兵等. 土壤中麦草灵残留的固相萃取-高效液相色谱测定[J]. *环境化学*, 1997, 16(5): 470-472.
- [58] Haib Jamal, Hofer Iris, Renaud Jean-Marc. Analysis of multiple pesticide residues in tobacco using

- pressurized liquid extraction,automated solid-phase extraction clean-up and gas chromatography-tandem mass spectrometry[J]. *Journal of Chromatography A*, 2003, 1020(2): 173 – 187.
- [59] 刘硕谦, 刘仲华, 黄建安等. 固相萃取-毛细管气相色谱法检测羊蒿等药用植物有机氯农药残留[J]. *分析实验室*, 2005, 24(2): 47-50.
- [60] 阎正, 封棣, 李申杰等. 固相萃取-毛细管气相色谱法测定中草药中13种有机氯农药的残留量[J]. *色谱*, 2005, 23(3): 308-311.
- [61] 蔡亚岐, 刘樱燕, 江桂斌. 固相微萃取-液相色谱联用技术研究进展[J]. *化学进展*, 2004, 16(5): 708-716.
- [62] Beltran J, LÓpez F J, Hernández F. Solid-phase microextraction in pesticide residue analysis[J]. *Journal of Chromatography A*, 2000, 885 (1-2): 389 – 404.
- [63] 王锡昌, 陈俊卿. 固相微萃取技术及其应用[J]. *上海水产大学学报*, 2004, 13(4): 348-352.
- [64] 王新平. 固相微萃取在有机磷农药残留分析中的应用[J]. *化学研究与应用*, 2003, 15(2): 135-140.
- [65] 刘源, 周光宏, 徐幸莲. 固相微萃取及其在食品分析中的应用[J]. *食品与发酵工业*, 2003, 29(7): 83-87.
- [66] 陈猛, 袁东星, 许鹏翔等. 固相微萃取研究进展[J]. *分析科学学报*, 2002, 18(5): 429-435.
- [67] 冯雪, 贾金平, 王亚林等. 固相微萃取技术研究与应用现状[J]. *化工环保*, 2002, 22(3): 146-151.
- [68] 康凯, 卢俊彪, 范国梁. 固相微萃取的发展近况[J]. *化学研究与应用*, 2002, 14(4): 371-376.
- [69] 杨云, 栾伟, 罗学军等. 微波辅助萃取-固相微萃取联用气相色谱-质谱法测定土壤中的扑草净[J]. *分析化学*, 2004, 32(6): 775-778.
- [70] Bao-Hucy Hwang, Maw-Rong Lee. Solid-phase microextraction for organochlorine pesticide residues analysis in Chinese herbal formulations[J]. *Journal of Chromatography A*, 2000, 898(2): 245 – 256.
- [71] Zambonin Carlo G, Quinto Maurizi, De Vielro Nicoletta, et al. Solid-phase microextraction-gas chromatography mass spectrometry:A fast and simple screening method for the assessment of organophosphorus pesticides residues in wine and fruit juices[J]. *Food Chemistry*, 2004, 86 (2): 269 – 274.
- [72] Fernández M, Padrón C, Majcon L, et al. Determination of organophosphorus pesticides in honeybees after solid-phase microextraction[J]. *Journal of Chromatography A*, 2001, 922 (1-2): 257 – 265.
- [73] Lambropoulou Dimitra A, Albanis Triantafyllos A. HeadSpace solid-phase microextraction in combination with gas chromatography-mass spectrometry for the rapid screening of organophosphorus insecticide residues in strawberries and cherries[J]. *Journal of Chromatography A*, 2003, 993 (1-2): 197 – 203.
- [74] 王新平, 杨云, 栾伟等. 固相微萃取-气相色谱-质谱联用分析环境水样中痕量有机磷农药[J]. *分析实验室*, 2003, 22(5): 5-9.

- [75] 魏立青, 郭杰, 蒋华宇等. 固相微萃取(SPME)GC/Ms、GC/MS/MS法检测环境水中的有机磷杀虫剂[J]. 刑事技术, 2004, (5): 31-35.
- [76] 王若苹. 固相微萃取-毛细管气相色谱法快速同步分析水中有机氯及有机磷农药[J]. 中国环境监测, 2004, 20(3): 23-27
- [77] 帅琴, 杨薇, 郑岳君等. 固相微萃取与气相色谱-质谱联用测定有机磷杀虫剂的残留量[J]. 色谱, 2003, 21(3): 273-276.
- [78] 冯峰, 高松亭, 韩朔暎. 固相微萃取-高效液相色谱法测定除草剂苯噻草胺[J]. 农业环境科学学报, 2003, 22(2): 242-243.
- [79] 胡玉玲, 钟伟健, 李攻科. 固相微萃取-高效液相色谱联用分析环境水样中的氨基甲酸酯农药[J]. 中山大学学报, 2004, 43(6): 124-127.
- [80] 刘曙照, 钱传范. 九十年代农药残留分析新技术[J]. 农药, 1998, 37 (6): 11-13.
- [81] 李新社. 超临界流体萃取蔬菜中的残留农药[J]. 食品科学, 2003, 24(6): 124-125.
- [82] 徐敦明, 陈安良, 余向阳等. 超临界流体萃取气相色谱法测定鱼肉中的毒死蜱残留[J]. 分析化学, 2005, 33(4): 451-454.
- [83] Norman Kevin N T, Panton Sean H W. Supercritical fluid extraction and quantitative determination of organophosphorus pesticide residues in wheat and maize using gas chromatography with flame photometric and mass spectrometric detection[J]. Journal of Chromatography A, 2001, 907 (1-2): 247 - 255.
- [84] Rissato Sandra R, Galhiane Mário S, Knoll Fátima R N, et al. Supercritical fluid extraction for pesticide multiresidue analysis in honey: determination by gas chromatography with electron-capture and mass spectrometry detection[J]. Journal of Chromatography A, 2004, 1048 (2): 153 - 159.
- [85] 万绍晖, 赵春杰, 徐玫等. 超临界流体萃取法去除当归中有机氯农药[J]. 沈阳药科大学学报, 2003, 20(3): 187-190.
- [86] Zuin V G, Yarlwake J H, Bicelli C. Fast supercritical fluid extraction and high-resolution gas chromatography with electron-capture and flame photometric detection for multiresidue screening of organochlorine and organophosphorus pesticides in Brazil's medicinal plants[J]. Journal of Chromatography A, 2003, 985 (1-2): 159 - 166.
- [87] 刘晓金, 钟国华, 胡美英等. 超临界流体技术在农药研究中的应用[J]. 精细化工, 2004, 21(9): 679-683.
- [88] 徐少萍, 何熹. 超临界流体萃取技术的应用及其发展[J]. 山东轻工业学院学报, 2003, 17(2): 43-45.
- [89] 陈虹, 张承红. 超临界流体萃取及其在我国的研究进展[J]. 化学进展, 1999, 11(3): 227-238.
- [90] 王欢, 李正山, 洪荷芳. 超临界流体的应用及发展趋势[J]. 环境技术, 2003, (5): 8-10.
- [91] 白靖文, 叶 非. 超临界流体农药残留分析技术的应用进展[J]. 新农药, 2005, (3): 13-16.
- [92] 冯志强. 超临界流体萃取联用技术的应用[J]. 分析仪器, 2005, (1): 6-10.

- [93] 李攻科, 何小青, 熊国华等. 用微波消解气相色谱法测定鱼肉中的有机氯农药[J]. 分析测试学报, 1999, 18(4): 5-8.
- [94] 周长征, 高瑞勇. 气相色谱检测法测定细辛道地药材中的有机氯农药残留量[J]. 中国中药杂志, 1998, 23(10): 588-590.
- [95] 张友松, 徐峰, 杜少容. 杀菌剂噻菌灵在香菇上残留量测定[J]. 农药, 1996, 35(5): 34.
- [96] 王元鸿, 荣会. 毛细管气相色谱分析人参中有机氯农药残留量[J]. 分析化学, 1994, 22(9): 931-934.
- [97] 薛健, 陈健民, 葛兴等. 高效液相色谱法测定金银花中保卫田残留量[J]. 分析实验室, 1996, 15(3): 82-83.
- [98] 高天兵, 张曙明, 田金改等. 中药中有机磷农药残留量的毛细管气相色谱测定方法[J]. 分析测试学报, 1999, 18(5): 15-17.
- [99] 冯秀琼, 汤庆勇. 中草药中14种有机磷农药残留量同时测定[J]. 农药学报, 2001, 3(3): 45-52.
- [100] 马会. 烟草中有机磷农药残留量测定方法研究[D]. 郑州, 郑州大学, 2006.
- [101] 杨云, 栾伟, 李攻科. 微波辅助萃取气相色谱-质谱联用测定蔬菜中的扑草净[J]. 分析实验室, 2003, 22(4): 75-78.
- [102] 杨云, 张卓显, 李攻科. 微波辅助萃取/气相色谱-质谱联用分析蔬菜中的有机磷农药[J]. 色谱, 2002, 20(5): 390-393.
- [103] Patoki O S, Awofolu R O. Methods for selective determination of Persistent organochlorine pesticide residues in water and sediments by capillary gas chromatography and electron capture detection[J]. Journal of Chromatography A, 2003, 983 (1-2): 225 - 236.
- [104] 干建松, 赵玉萍. 微波辅助提取技术(MAE)研究和应用进展[J]. 现代食品科技, 2005, 21(3): 155-158.
- [105] Skermer. Analytical Chemistry [M], Elsevier, 1995, 67: 1 - 20
- [106] 中国光学学会光谱专业委员会译. AOAC公定分析方法第15版[M]. 北京: 中国科技出版社, 1990.
- [107] 董文庚, 陈学诚, 郎志敏等. 褪色分光光度法间接测定草甘磷[J]. 分析化学研究简报, 1997, 25(10): 1210-1212.
- [108] 梅建庭, 王化南. 荧光光度法测定环境水中微量甲基对硫磷[J]. 分析化学研究简报1997, 25(1): 82-84.
- [109] 李桂贞. 气相、高效液相及薄层色谱分析[M], 重庆: 华东化工学院出版社, 1992.
- [110] GB/T17331-1998, 食品中有机磷和氨基甲酸酯类农药多种残留的测定[S], 1998.
- [111] 井乐刚. 食品中残留农药检测技术的新发展[J]. 上海: 食品科学, 2002, 23(3).
- [112] Metha A C. Chromatography [J], Journal of Chromatography, 1989, 494:1 - 6
- [113] 朱梦栩. 色谱[M]. 石家庄: 河北教育出版社, 2000, 64-66.

- [114] S tanH J. A nalyticalC hemistry[M], 1991, 339 (6):395 – 398.
- [115] Draper W M. Analytical Food Chemistry [J], Journal of Chromatography, 1995,43 (8): 2077 – 2082.
- [116] E. Stahl. Thin-Layer Chromatography-A Laboratory Handbook, Second [M], E d, 1969.
- [117] Paul Richards, Martin Johnson, David Ray, Colin Walker. Novel Protein targets for organophosphorus compounds[J]. Chemico-Biological Interactions, 1999, 119-120: 503 – 511.
- [118] 侯玉华, 李珊, 王宁等. 薄层色谱法测定蔬菜中的甲胺磷农药[J]. 中国公共卫生, 2000, 16(9): 840.
- [119] 关一亮. 薄层色谱法检测氧化乐果[J]. 刑事技术, 2001, (5): 26.
- [120] 中国光学学会光谱专业委员会译. AOAC公定分析方法第15版[M]. 北京: 中国科技出版社, 1990.
- [121] Kuhuwar M Y, Chanar A H, Lanjwani S N. Indirect Liquid Chromatographic Determination of Malathionin Formulations, based on the Formation of Palladium(II)-Dimethylidithiophosphate Complex[J]. Journal of Chromatography, 1997, 758 (1): 159 - 162.
- [122] James E. Analytical Chemistry [J], Conway, 1991, 74 (5): 715 - 717
- [123] D. Barceló, M.C. Hennion. On-line sample handling strategies for the trace-level determination of pesticides and their degradation products in environmental waters. Anal. Chim. Acta, 1995, 318: 1 - 41.
- [124] 陈国珍, 黄贤智, 许金钧等. 荧光分析法 (第二版) [M]. 科学出版社, 1994, 28-29.
- [125] 孔祥虹, 叶宏, 李建华等. 毛细管气相色谱法快速测定辣椒中7种有机磷农药残留[J]. 化学分析计量, 2007, 16(6): 30-31.
- [126] 杨亚, 平林森气相色谱法测定蔬菜中有机磷农药的残留量[J]. 化学分析计量, 2003, 12(5): 23-25.
- [127] 庞艳华, 丁永生, 马旭等. 水果蔬菜中有机磷农药残留量的气相色谱测定方法研究[J]. 安全与环境学报, 2005, 5(1):30-31.
- [128] 丁毅, 徐光曙. 气相色谱-二级质谱联用技术测定有机磷农药[J]. 现代农药, 2006, 5(1): 17-19.
- [129] 汪丽, 蔡依军, 户献雷等. 固相微萃取/气相色谱-质谱检测纺织品中有机磷农药残留[J]. 分析测试学报, 2007, 26(3): 413-416.
- [130] Arlington, V.A., Association of Official Analytical Chemists, Official Methods of Analysis of AOAC International, 16th ed. AOAC International, (Chapter 10). 1995.
- [131] 周瑶敏, 王冬根, 戴廷灿等. 用毛细管气相色谱法测定蔬菜中的辛硫磷[J]. 江西农业学报, 2005, 17(4): 52-55.
- [132] Fernández M, Picó Y, Manes J. Simultaneous Determination of Carbamate and Organophosphorus Pesticides in Honeybees by Liquid Chromatography-Mass Spectrometry[J]. Chromatographia, 2003, 58: 151-158.

- [133] Guo Li, Liang Pei, Zhang Taozhi, et al. Use of continuous-flow microextraction and liquid chromatography for determination of phoxim in water samples[J]. *Chromatographia*, 2005, 61: 523-526.
- [134] 贺敏, 戴荣彩, 余平等. 玉米中辛硫磷残留的高效液相色谱方法研究[J]. *农药科学与管理*, 2007, 28(10): 21-23.
- [135] 侯学文, 何衍彪, 徐汉虹. 胆碱酯酶抑制法检测辛硫磷农药残留[J]. *河北师范大学学报(自然科学版)*, 2003, 27(2): 78-81.

致 谢

致 谢

三年的研究生学习生活即将结束，我内心感慨万千。三年的学习生活使我从事科研工作应具备的基本能力素质得到了提高，还使我更深刻的理解了人生的真谛。这三年将是我人生历程中的一段重要而精彩的经历。

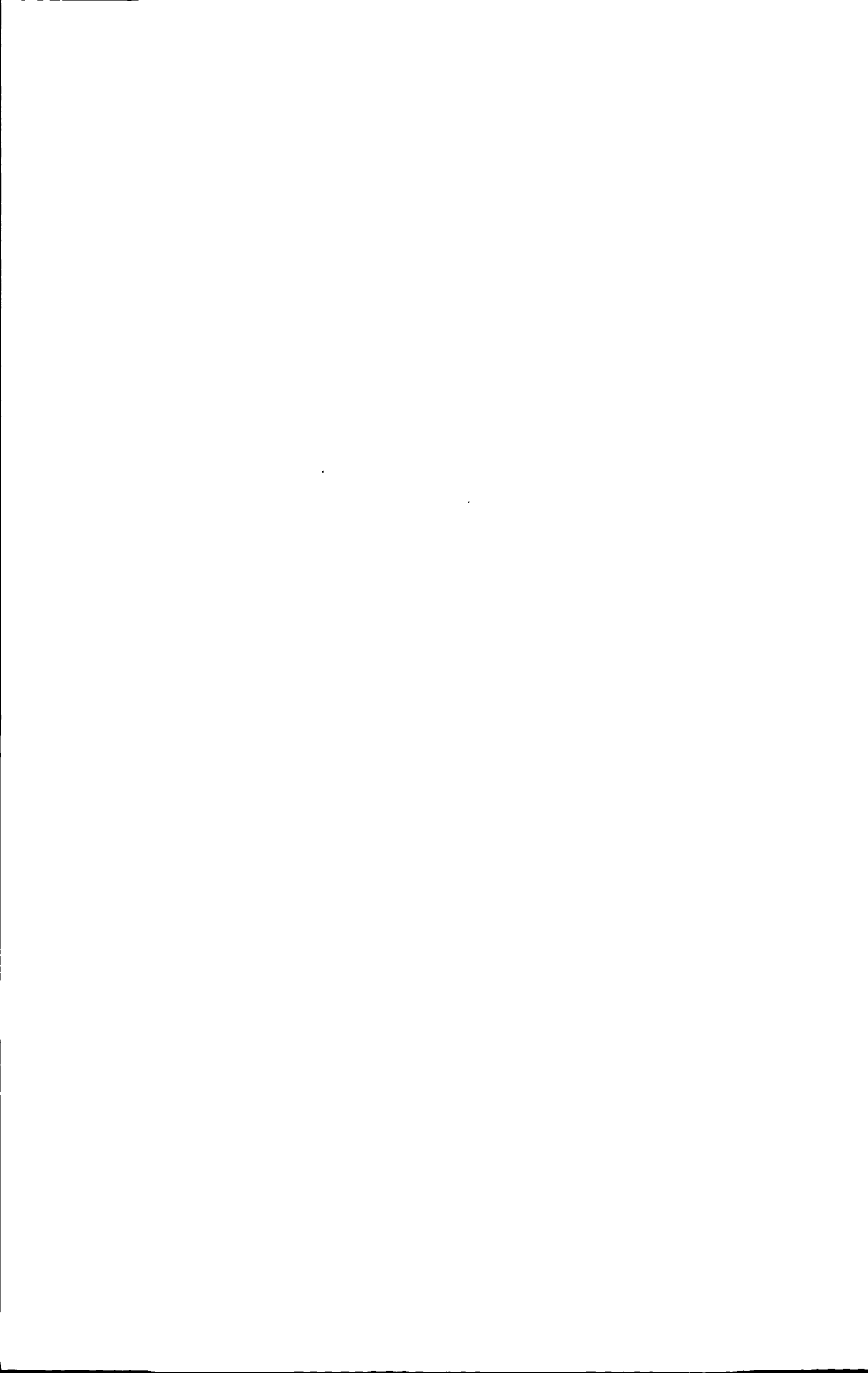
这三年的学习工作中，凝聚了导师程定玺老师的大量心血。在论文的文献查阅、选题、实验、撰写过程中，程老师都给予了悉心指导。程老师科学的思维方法、严谨的治学态度、扎实的科研功底都使我深受启迪。在此论文完成之际，向程老师表示深深的敬意和诚挚的感谢。

此外，还要感谢分析教研室的全体老师们！同时感谢办公室、仪器室、药品室、资料室的各位老师给我提供的帮助。还要感谢我的师姐师妹们对我的帮助。在这里请接受我诚挚的谢意！

最后感谢我的家人、朋友，他们对我无私的支持和爱是我不断前进的动力。

赵亚鹏

2010年5月



攻读学位期间发表的学术论文目录

- [1] 程定玺, 赵亚鹏. 吡啶橙-十二烷基苯磺酸钠-有机磷农药体系的荧光反应及分析应用[J]. 分析试验室, 2009, 28 卷第 11 期
- [2] 程定玺, 赵亚鹏. 荧光法测定有机磷农药残留总量的条件优化研究[J]. 理化检验-化学分册, 录用
- [3] 程定玺, 赵亚鹏, 高 曼. 荧光法快速检测有机磷农药残留总量 [J]. 分析试验室, 2010, 29 卷第 2 期
- [4] 程定玺, 赵亚鹏, 高 曼. 荧光法快速检测辛硫磷残留量, 理化检验-化学分册, 录用



独创性声明

本人郑重声明：所呈交的学位论文是我个人在导师指导下进行的研究工作及取得的研究成果。尽我所知，除了文中特别加以标注和致谢的地方外，论文中不包含其他人已经发表或撰写的研究成果，也不包含为获得河南师范大学或其他教育机构的学位或证书所使用过的材料。与我一同工作的同志对本研究所做的任何贡献均已在论文中作了明确的说明并表示了谢意。

作者签名：赵亚鹏 日期：20/0.6.2

关于论文使用授权的说明

本人完全了解河南师范大学有关保留、使用学位论文的规定，即：有权保留并向国家有关部门或机构送交论文的复印件和磁盘，允许论文被查阅和借阅。本人授权河南师范大学可以将学位论文的全部或部分内容编入有关数据库进行检索，可以采用影印、缩印或扫描等复制手段保存、汇编学位论文。（保密的学位论文在解密后适用本授权书）

作者签名：赵亚鹏 导师签名：程志军 日期：20/0.6.2

