

自动固相萃取-气相色谱串联质谱法 测定果蔬中的多组分农药残留

徐燕, 王志强, 乔永青, 王余萍, 王冬梅

安阳市疾病预防控制中心, 河南 安阳 455000

摘要: **目的** 建立一种同时测定果蔬中有机磷、氨基甲酸酯类及拟除虫菊酯类等多组分农药残留的分析方法。 **方法** 果蔬样品经乙腈提取, 无水硫酸钠脱水, 固相萃取小柱净化, 再经旋转蒸发及氮吹浓缩后, 用 GC-MS/MS 进行测定, 外标法定量。 **结果** 有机磷、氨基甲酸酯类及拟除虫菊酯类等多组分农药经过 36 min 后完全分离, 在 0.01~10.0 $\mu\text{g/ml}$ 的线性范围内相关系数 r 均 >0.9956 , 平均加标回收率在 72.1%~109.3%之间, 相对标准偏差在 4.0%~11.3%之间。 **结论** 该方法不仅前处理简便易操作, 而且具有较高的灵敏度、准确度和精密度, 适合于大批量样品的日常检测。

关键词: 固相萃取; 气相色谱串联质谱; 果蔬; 多组分农药残留

中图分类号: R155.5 文献标识码: B 文章编号: 1006-3110(2017)01-0117-03 DOI: 10.3969/j.issn.1006-3110.2017.01.037

Determination of multi-component pesticide residues in fruits and vegetables by automatic solid phase extraction and gas chromatography tandem mass spectrometry

XU Yan, WANG Zhi-qiang, QIAO Yong-qing, WANG Yu-ping, WANG Dong-mei

Anyang Municipal Center for Disease Control and Prevention, Anyang, Henan 455000, China

Abstract: **Objective** To establish an analytical method for simultaneous determination of multi-component pesticide residues in fruits and vegetables by automatic solid phase extraction and gas chromatography tandem mass spectrometry. **Methods** Fruit and vegetable samples were extracted with acetonitrile, dehydrated by anhydrous sodium sulfate, purified by solid phase extraction small column, performed rotary evaporation and nitrogen blow after enrichment, determined by GC-MS/MS, and quantitated by external standard method. **Results** Multi-component pesticides were separated completely after 36 min. The correlation coefficient r was >0.9956 within the linear range of 0.01–10.0 $\mu\text{g/ml}$. The average standard addition recovery rates were between 72.1% and 109.3%, and the relative standard deviation was between 4.0% and 11.3%. **Conclusions** This method not only has the advantage of simple pretreatment, but also shows higher sensitivity, accuracy and precision. It is suitable for routine detection of bulk samples.

Key words: Solid phase extraction; Gas chromatography tandem mass spectrometry; Fruits and Vegetables; Multi-component pesticide residue

农药残留(pesticide residues), 是指农药在使用后一个时期内没有被分解而残留于生物体、收获物、土壤、水体、大气中的微量农药原体、有毒代谢物、降解物和杂质的总称。残留农药直接通过植物果实或水、大气到达人、畜体内, 或通过环境、食物链最终传递给

人、畜。果蔬中的残留农药如果在人体内长期蓄积会引发慢性中毒, 导致许多慢性疾病, 如心脑血管病、肝病、糖尿病、癌症等, 严重危害人体的健康。由于农药种类繁多, 测定农药残留的方法有: 气相色谱法、气相色谱-质谱法、液相色谱法、液相色谱-质谱法等^[1-4]。因此, 建立快速、灵敏、实用、可靠的多组分农药残留的分析技术是控制农药残留量和保障食品安全的重要基

础^[5]。本文采用的 GS-MS/MS 法相对于 GS-MS 法, 其抗干扰能力更强^[6], 可以实现多组分农药残留的同时测定。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

1.1.1 仪器 7890A/7000 GC-MS/MS(Agilent 公司, 美国); GX-274ASPEC 四通道自动固相萃取仪(吉尔森, 德国); RV10 旋转蒸发仪(IKA 公司, 德国); N-EVAP112 氮吹仪(Organomation 公司, 美国)净化柱: Carb/NH2 固相萃取柱(柱容量 500 mg, Agilent 公司, 美国)。

1.1.2 试剂 正己烷(纯度 $>98.0\%$, 美国 MREDA); 二氯甲烷(纯度 $>99.9\%$, 美国 Fisher); 乙腈(纯度 $>99.9\%$, 美国 Fisher); 丙酮(纯度 $>99.8\%$, 美国 J. T

作者简介: 徐燕(1969-), 女, 本科学历, 副主任技师, 主要从事理化检验工作。

Baker);无水硫酸钠(优级纯,需经 550 ℃ 烘烤 4 h 后才能使用);氯化钠(优级纯);淋洗液:丙酮—二氯甲烷混合溶液(1:1,体积比);混合标准溶液:30 种农药标准(100 μg/ml,农业部环境保护科研监测所)。

1.2 方法

1.2.1 样品的前处理 取 10.0 g 样品于具塞三角瓶中,加入 50 ml 乙腈,超声提取 20 min,将提取液转入 50 ml 装有 8 g 氯化钠的比色管中,振摇 100 次后取 20 ml 样品提取液于旋蒸瓶中,经 40 ℃ 水浴减压浓缩至近干。每次取 1.5 ml 淋洗液洗瓶,共洗 3 次,合并洗涤液,待净化。净化:将 Carb/NH2 柱放在全自动固相萃取仪上,先用 5 ml 淋洗液,流速为 1 ml/min 活化 Carb/NH2 柱,然后将 4.5 ml 洗涤液加入到净化柱中,之后再加入 5 ml 淋洗液,流速为 1 ml/min,收集所有液体于 10 ml 离心管中,经氮气吹干,加入 1.0 ml 正己烷溶解混匀,过 0.22 μm 滤膜于进样瓶中,上 GC-MS/MS 检测。

1.2.2 色谱条件 色谱柱:HP-5MS(30 m×0.25 mm×0.25 μm)弹性毛细管石英柱,升温程序:柱温 60 ℃,保持 1 min,以 25 ℃/min 升至 220 ℃,保持 1 min,再以 8 ℃/min 升至 280 ℃,保持 5 min。进样口温度 250 ℃,载气为高纯氦气(99.999%),柱流速为 1.0 ml/

min,不分流进样,进样量为 1.0 μl。
1.2.3 质谱条件 电子轰击(EI)离子源温度为 230 ℃,电离能量为 70 eV,GC-MS/MS 传输线温度为 280 ℃,载气为高纯氦气(99.999%),碰撞气为高纯氮气(99.999%),延迟时间为 5 min。

2 结果

2.1 色谱条件的优化 在 0.8、1.0、1.2 ml/min 的不同流速以及不同的升温方式即升温速率翻倍的情况下,选择能使所有组分不仅完全分离,而且可较快流出的柱流速和升温方式,最终确定本方法的最佳色谱条件为 1.2.2 所述。

2.2 质谱条件的优化 在电子轰击离子源模式下,先采用 SCAN 模式,在 50~500 质量数间对 10.0 μg/ml 的混合标准进行扫描,以确定各组分的出峰时间,在 NIST 库中寻找出特征离子,即质核比(m/z)大且强度高的离子作为母离子;再用不同的能量 5~40 eV 之间碰撞母离子,出现不同的子离子,从中选出强度比较高的 2 个离子,以此确定碰撞能量。在此质谱条件下,采用 MRM 模式,对 30 种农药同时进行 GC-MS/MS 分析,在 36 min 内全部流出的离子流图。见表 1、图 1。

表 1 多组分农药的质谱参数

序号	名称	保留时间(min)	母离子	子离子 1	子离子 2	碰撞能量 1(eV)	碰撞能量 2(eV)
1	涕灭威	5.938	86.0	69.0	56.0	5	5
2	甲胺磷	6.043	140.9	95.0	80.0	5	5
3	敌敌畏	6.222	185.0	93.0	109.0	15	15
4	乙酰甲胺磷	6.687	136.0	94.0	94.0	10	5
5	涕灭威砒	8.067	86.1	69.2	41.0	25	25
6	3-羟基克百威	9.919	137.0	109.2	81.2	30	40
7	灭多威	10.127	105.0	88.2	57.9	5	10
8	氧化乐果	10.606	156.0	110.0	110.0	5	20
9	灭线磷	11.435	158.0	96.9	113.9	15	5
10	久效磷	12.443	127.0	109.0	95.0	10	15
11	甲拌磷	12.614	231.0	128.9	174.9	25	10
12	乐果	13.436	125.0	79.0	93.0	5	15
13	克百威	13.746	164.0	149.0	131.0	10	15
14	氯唑磷	15.724	161.1	119.0	146.0	10	5
15	甲基对硫磷	17.275	263.0	109.0	79.0	10	35
16	毒死蜱	19.105	314.0	258.0	286.0	15	5
17	对硫磷	19.903	291.0	109.0	81.0	10	10
18	水胺硫磷	20.315	136.0	108.0	68.9	15	40
19	辛硫磷	21.905	109.0	91.0	81.0	5	10
20	甲基异柳磷	22.467	199	147.1	121.1	5	10
21	杀扑磷	24.739	145.0	85.0	58.0	5	15
22	三唑磷	26.730	161.0	134.0	106.0	5	10
23	丁硫克百威	27.155	160.1	104.1	57.1	40	40
24	联苯菊酯	28.695	181.0	165.0	166.0	25	15
25	甲氧菊酯	28.875	181.0	152.0	127.0	30	35
26	氯氟菊酯	30.314	181.0	152.0	127.0	30	35
27	氟氯菊酯	32.409	163.0	91.0	127.0	15	15
28	氯菊酯	32.544	181.0	152.0	127.0	25	35
		32.690	181.0	152.0	127.0	25	35
		32.801	181.0	152.0	127.0	25	35
		32.854	181.0	152.0	127.0	25	35
29	氰戊菊酯	34.017	167.0	125.0	89.0	15	35
30	溴氰菊酯	35.495	253.0	93.0	77.0	20	40

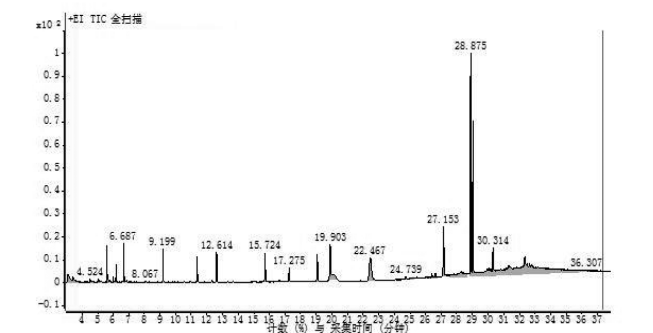


图 1 30 种农药的总离子流图

2.3 标准曲线的绘制 以正己烷为溶剂,将 30 种农药配制成浓度均为 0.01、0.05、0.10、0.50、1.00、3.00、5.00、7.00、10.00 $\mu\text{g/ml}$ 的混合标准溶液。按照上述实验条件,得出不同农药含量对峰面积的校正曲线。见图 2。

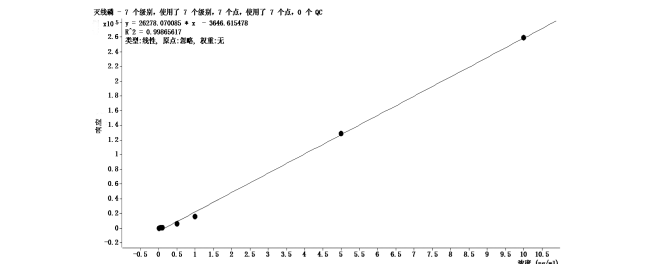


图 2 灭线磷的标准曲线图

2.4 方法的精密度、回收率、检出限 在已知空白样品中加入 1.00 $\mu\text{g/ml}$ 的混合标准溶液,按照上述实验方法进行样品处理,重复测定 6 次。30 种农药的回收率在 72.1%~109.3% 之间,相对标准偏差在 4.0%~11.3% 之间,检出限在 0.001~0.006 $\mu\text{g/ml}$ 之间,以 3 倍噪声计算仪器的检出限。见表 2。

表 2 多组分农药标准曲线、相关系数、回收率、RSD、检出限						
序号	名称	标准曲线	r	回收率(%)	RSD(%)	检出限($\mu\text{g/ml}$)
1	涕灭威	$Y = 10940.7X - 4013.1$	0.9996	72.1	8.9	0.003
2	甲胺磷	$Y = 12267.8X - 4398.4$	0.9991	80.9	11.3	0.003
3	敌敌畏	$Y = 15730.7X - 2388.6$	0.9993	83.7	6.5	0.002
4	涕灭威砒	$Y = 110.4X - 0.448$	0.9980	80.2	9.1	0.006
5	乙酰甲胺磷	$Y = 953.1X - 1221.7$	0.9988	75.6	9.2	0.005
6	3-羟基克百威	$Y = 2942.1X - 187.30$	0.9995	79.6	8.5	0.005
7	灭多威	$Y = 161.8X - 3.6$	0.9987	90.0	7.2	0.006
8	氧化乐果	$Y = 2919.7X - 1536.1$	0.9995	85.4	9.6	0.005
9	灭线磷	$Y = 26045.6X - 3757.2$	0.9993	76.5	6.3	0.003
10	久效磷	$Y = 945.6X - 432.9$	0.9995	85.2	7.4	0.006
11	甲拌磷	$Y = 5745.3X - 477.4$	0.9997	81.8	5.7	0.003
12	乐果	$Y = 8801.0X - 2369.7$	0.9995	89.4	7.0	0.005
13	克百威	$Y = 5698.3X - 2041.8$	0.9985	96.8	5.9	0.006
14	氯唑磷	$Y = 24973.5X - 2098.0$	0.9997	79.0	5.1	0.002
15	甲基对硫磷	$Y = 20707.6X - 2322.5$	0.9996	94.3	7.0	0.002
16	毒死蜱	$Y = 17087.1X - 1664.3$	0.9997	103.5	4.5	0.002
17	对硫磷	$Y = 17193.8X + 17052.6$	0.9995	93.2	6.8	0.002
18	水胺硫磷	$Y = 3628.4X - 1060.7$	0.9971	93.6	5.3	0.005
19	辛硫磷	$Y = 10.298X - 6.821$	0.9991	96.2	5.9	0.006
20	甲基异柳磷	$Y = 3536.0X - 1602.5$	0.9987	85.7	7.0	0.003
21	杀扑磷	$Y = 84319.3X - 20514.5$	0.9977	80.2	6.1	0.005
22	三唑磷	$Y = 1375.3X - 328.0$	0.9982	109.3	5.6	0.005
23	丁硫克百威	$Y = 26445.2X - 8756.0$	0.9996	108.9	4.0	0.002

续表 2						
序号	名称	标准曲线	r	回收率(%)	RSD(%)	检出限($\mu\text{g/ml}$)
24	联苯菊酯	$Y = 8980.9X + 45.4$	0.9965	78.6	8.4	0.005
25	甲氧菊酯	$Y = 79352.1X - 2417.0$	0.9985	85.8	5.3	0.001
26	氯氟氰菊酯	$Y = 15428.0X - 3460.8$	0.9984	91.0	6.0	0.002
27	氟氯氰菊酯	$Y = 18213.6X - 5585.7$	0.9956	87.9	8.3	0.005
28	氯氰菊酯	$Y = 2218.7X - 490.9$	0.9982	97.5	7.8	0.005
29	氰戊菊酯	$Y = 1273.0X - 356.2$	0.9970	91.5	5.3	0.005
30	溴氰菊酯	$Y = 7166.8X - 2497.3$	0.9997	84.0	7.6	0.005

2.5 样品检测 检测 40 份果蔬样品,其中 5 份样品分别检出联苯菊酯、氯氟氰菊酯、毒死蜱、灭线磷等 4 种农药残留,油麦菜中毒死蜱 0.07 mg/kg ;尖椒中灭线磷 0.05 mg/kg ;生菜中灭线磷 0.06 mg/kg ;豇豆中联苯菊酯 0.15 mg/kg ;芹菜中氯氟氰菊酯 0.11 mg/kg 。

2.6 本方法选择乙腈作为提取溶剂 因为:①乙腈可以在盐饱和状态下与水能完全分离,并且不必引入非极性的溶剂;②乙腈提取样品后,其中的杂质要少于其它提取溶剂^[7-9],如丙酮就不适用提取颜色深的样品,因其对色素类杂质提取多;③乙腈对气相色谱-质谱分析有很好的适用性。

3 讨论

本方法利用 Agilent 7890A/7000 气相色谱—串联质谱仪,建立了对果蔬中有机磷、氨基甲酸酯类及拟除虫菊酯类等多组分农药残留检测技术,采用全扫描在 NIST 检索库里确定所有目标化合物中丰度高且质量数较大的离子来作为母离子,在 5~40 eV 之间调节碰撞能量,从中选取碰撞后所得丰度较高的 2 个子离子作为定性和定量的离子,从而确定最佳碰撞能量。在此优化条件下,30 种农药基线能完全分离,不仅提高了检测的灵敏度,减少了干扰,而且还可对复杂基质中的假阳性结果进行排除,保证了对多组分农药残留检测分析的准确性。本方法的灵敏度、准确度、精密度较好,样品前处理简便快速,适合于大批量样品的日常检测。

参考文献

[1] 杨大进, 李宁. 2014 年国家食品污染物和有害因素风险监测工作手册[M]. 北京: 中国标准出版社, 2014: 126

[2] 中华人民共和国农业部. NY 1380-2007 蔬菜水果中 51 种农药残留的测定气相色谱-质谱法[S]. 北京: 中国标准出版社, 2007.

[3] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局. GB/T 5009.146-2008 植物性食品中有机氯和拟除虫菊酯农药多种残留的测定[S]. 北京: 中国标准出版社, 2008.

[4] 李晓颖, 张红医, 常巧英, 等. 气相色谱-四极杆飞行时间质谱准确鉴定常见水果蔬菜中的农药残留[J]. 色谱, 2014, 32(3): 268-277.

[5] 崔淑华, 陈慰双, 钱家亮, 等. 气相色谱-质谱法测定蔬菜和水果中 193 种农药的残留[J]. 色谱, 2013, 31(9): 885-893.

[6] 程志, 张蓉, 刘韦华, 等. 气相色谱-串联质谱法快速筛查测定中药材中 144 种农药残留[J]. 色谱, 2014, 32(1): 57-68.

[7] 徐睿, 卢大胜, 冯超, 等. 气相色谱-三重四级杆质谱联用法测定蔬菜膳食样品中 97 种农药残留量[J]. 食品安全质量检测学报, 2014, 5(2): 359-368.

[8] 谢建军, 李菊, 陈捷, 等. 固相分散萃取-气相色谱-质谱联用法测定葡萄酒中 43 种农药残留量[J]. 食品安全质量检测学报, 2014, 5(8): 2488-2495.

[9] 易承学, 徐虹, 何凯, 等. 金针菇中有机磷农药残留的快速检测方法研究[J]. 实用预防医学, 2015, 22(5): 621-623.