

王建忠,郭春景,李娜,等.改进的 QuEChERS 方法结合 UPLC-MS/MS 同时快速检测 8 种蔬菜中 77 种农药残留[J].江苏农业科学,2014,42(4):248-252.

改进的 QuEChERS 方法结合 UPLC-MS/MS 同时快速检测 8 种蔬菜中 77 种农药残留

王建忠¹,郭春景¹,李娜²,詹德江¹,任志莹¹

(1. 辽宁省农业科学院开放实验室,辽宁沈阳 110161; 2. 天津市农业质量标准与检测技术研究所,天津 300381)

摘要:采用改进的 QuEChERS 方法,利用 UPLC-MS/MS 检测分析,建立了叶菜类(油菜、芹菜)、甘蓝类(甘蓝)、根茎类(茎用莴苣)、茄果类(辣椒、番茄)和豆类(豇豆)5 大类 8 种蔬菜 77 种农药残留的分析方法。样品用乙腈提取,提取液经盐析后,经氨基粉(NH_2)、 C_{18} 和石墨化炭黑(GCB)的混合粉末净化,采用 UPLC-MS/MS 在正负离子模式下以多反应监测扫描方法进行检测,结果表明:组合净化剂结合乙腈液分配净化可有效去除杂质干扰;以豇豆为首试对象,77 种农药的定量下限(LOQ)范围在 0.001~0.1 mg/kg 之间,在 0.5 LOQ、1 LOQ、2 LOQ、5 LOQ、10 LOQ 和 20 LOQ 的添加水平下,空白添加浓度范围内线性良好($r^2 \geq 0.990$);8 种蔬菜分别在 0.01、0.05、0.1 mg/kg 3 种浓度水平下进行添加回收试验,该方法的平均回收率为 77.4%~100.7%,相对标准偏差为 6.7%~12.4%。结果表明:本方法简便、快速、安全、价格低廉、重现性良好,具有一次处理样品可同时测定 77 种农药残留的特点,适合于不同种类蔬菜中多农药残留的高通量定量检测。

关键词:改进 QuEChERS 方法;UPLC-MS/MS 方法;蔬菜;农药残留;快速检测

中图分类号:S481. *8 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2014)04-0248-05

农药残留检测方法很多,包括色谱方法、免疫分析法、生物传感器法等^[1],其中的色谱技术是大多数国家规定的技术,但此类方法的样品前处理复杂。随着农药残留监测工作的深入开展,对检测技术的要求越来越高,并向着简单、快速、

灵敏、多残留、低成本和易推广的方向发展。无论是发达国家还是发展中国家,都把如何准确快速地完成检测工作作为农药残留检测技术研究的热点。目前,我国农药残留检测方法主要有两大类:农药残留快速检测法和色谱法。农药残留快速检测法易出现假阳性或假阴性结果^[2]。而色谱法更为精确,其中的液质联用法在色谱法中的应用范围和所起作用日益突出。在农药多残留检测分析中,因农产品的种类非常多,就蔬菜而言,常见的也有上百种,因此,检测过程中的基质影响不可避免,样品净化是分析检测过程中的关键环节,其目的就是最大限度地提取目标物,把干扰降到最低、误差降到最

收稿日期:2013-12-17

基金项目:辽宁省科技攻关(编号:2011215004)。

作者简介:王建忠(1972—),男,江苏连云港人,硕士,研究员,主要从事农产品质量安全检测研究。Tel: (024) 31023348; E-mail: wjz721125@sina.com。

方法间存在显著的线性相关,其相关方程为 $P_{\text{ASI}} = 2.141 3 P_{\text{Olsen}} - 8.238 6$ ($r = 0.839 4$)。该方法测定的有效钾与常规方法(1 mol/L 中性 NH_4OAc 法)测定的有效钾之间不存在显著差异,因此可用该方法同时测定无土栽培基质的有效磷和有效钾含量。

参考文献:

- [1] Hunter A H. Laboratory and greenhouse techniques for nutrient survey to determine the soil amendments required for optimum plant growth[R]. Florida: Agro Service International, 1980.
- [2] 杨俐苹,金继运,梁鸣早,等. ASI 法测定土壤有效 P、K、Zn、Cu、Mn 与我国常规化学方法的相关性研究[J]. 土壤通报, 2000, 31(6): 277-279.
- [3] 熊桂云,刘冬碧,陈防,等. ASI 法测定土壤有效磷、有效钾和铵态氮与我国常规分析方法的相关性[J]. 中国土壤与肥料, 2007(3): 73-76.
- [4] 丁英,刘德江,张炎. ASI 法和常规分析法在新疆土壤测试中

- 的应用[J]. 新疆农业科学, 2007, 44(6): 820-823.
- [5] 袁家富,赵书军,张继铭,等. ASI 法与常规法测定湖北旱地土壤有效养分的相关性研究[J]. 湖北农业科学, 2007, 46(3): 374-376.
- [6] 胡德春,李贤胜,杨平,等. ASI 法与常规方法测定土壤养分速效 P、K、Cu、Zn 的相关性研究[J]. 安徽农业科学, 2007, 35(2): 477-478.
- [7] 冯艳红. 重庆地区测土配方施肥中有效氮磷钾测定方法研究[D]. 重庆:西南大学, 2007: 1-39.
- [8] 吴志鹏,张家侠. ASI 法测定土壤有效磷、有效钾与我国常规方法的相关性研究[J]. 河北农业科学, 2008, 12(5): 151-152.
- [9] 徐燕,徐茜,余鸿燕. Mehlich 3 法、ASI 法与常规方法测定土壤养分的相关性[J]. 江苏农业科学, 2012, 40(3): 296-298.
- [10] 谢嘉霖,吴增华. 无土栽培基质速效磷测定方法的研究[J]. 中国土壤与肥料, 2012(4): 91-94.
- [11] 谢嘉霖,倪新辉,徐磊. 无土栽培基质速效钾测定方法的比较[J]. 中国土壤与肥料, 2011(3): 96-98.
- [12] 鲍士旦. 土壤农化分析[M]. 3 版. 北京:中国农业出版社, 2000: 83-108.

小,所以样品前处理直接影响结果检测的准确性。

基质影响是 1993 年 Tang 等^[3]首先观察了的现象,它是指分析物在标准溶液和生物基质中的响应值产生差异,根据其响应值被加强还是减少描述为离子抑制或离子增强。基质效应主要由溶液中非挥发性或弱挥发性物质影响分析物带电雾滴的形成或挥发效率所致,目前基质效应产生的具体机制虽还未清楚^[4],但从客观上分析来看,其产生不仅与样品中除分析物以外的其他成分的组成及含量有关,还与分析系统的方法、试剂、进样方式等有关^[5]。

QuEChERS 方法是样品预处理方法,是 Quick、Easy、Cheap、Effective、Rugged and Safe 的英文简称,即快速、容易、便宜、有效、耐用和安全。2003 年 Anastassiades 等^[6]首次报道用于蔬菜和水果的预处理。其实质是将传统的液液萃取、分离和基质固相分散技术组合起来的预处理方法,我国自 2005 年引进 QuEChERS 方法。但自 QuEChERS 方法建立以来,大部分的分析工作者只是对方法操作步骤的引用,对于该方法各操作过程的影响因素及量化并未做进一步探讨。本试验正是基于 8 种蔬菜的复杂基质影响,对 QuEChERS 方法进行探索性改进,调整检测条件,改善前处理条件,就提取溶剂比较、吸附剂的选择、用量比例等对样品净化效果的影响因素进行了研究,提出 77 种农药残留在 8 种蔬菜中的 UPLC-MS/MS 色谱检测方法。

1 材料与方法

1.1 主要仪器设备与试剂

Acquity UPLC 超高效液相色谱仪及 XEVO TQ MS 三重四极杆质谱仪(Waters 公司);固相吸附剂有伯仲胺(PSA)、氨基粉(NH₂)、C₁₈、石墨化炭黑(GCB)(天津博纳艾杰尔科技有限公司);聚丙烯塑料离心管(新康医疗器械有限公司);乙腈、氯化钠、醋酸钠、无水硫酸镁、甲醇和有机滤膜(北京迪马科技有限公司);所用供试农药标准品购自德国 Dr. Ehrenstorfer GmbH 公司,试剂为分析纯或色谱纯,水为超纯水。

1.2 供试蔬菜的确定

所选择的甘蓝、油菜、芹菜、茎用莴苣、胡萝卜、辣椒、番茄和豇豆 8 种蔬菜,涉及叶菜类、甘蓝类、根茎类、茄果类和豆类 5 大类,基本涵盖人们日常消费的蔬菜品种,也基本包括了蔬菜的不同生育特点,基质干扰差异较大,对检测方法的适用性有很大提高。8 种供试蔬菜为市售蔬菜。

1.3 标准溶液的配制

1.3.1 标准储备液 分别称取各种农药标准品适量(精确至 0.01 mg),置于 50 mL 容量瓶中,根据标准品的溶解性选择甲醇、乙腈或丙酮-正己烷(体积比 1:1)溶解并定容,配制成浓度为 200 μg/mL 的标准储备液。

1.3.2 混合标准溶液 根据农药在仪器上的响应灵敏度,确定其在混合标准溶液中的浓度(表 1)。依据每种农药的混合标准溶液浓度以及标准储备液的浓度,移取一定量的单个农药标准储备液于 50 mL 容量瓶中,用甲醇定容。混合标准溶液在 4℃避光保存,可使用 6 个月。

1.4 样品前处理方法

1.4.1 提取 准确称取粉碎后的蔬菜样品 5 g(精确至 0.01 g),置于 50 mL 塑料离心管中,加入 10 mL 乙腈,涡旋提

取 2 min,加入 1 g 氯化钠,涡旋 1 min,4 000 r/min 离心 5 min,静置待乙腈相和水相分层。

1.4.2 净化 取 2 mL 上层乙腈相溶液置于装有 50 mg C₁₈、50 mg NH₂ 和 10 mg GCB 的 10 mL 离心管中,涡旋 1 min,4 000 r/min 离心 5 min,取 0.5 mL 上清液,加入 0.5 mL 甲醇-水溶液(体积比 50:50),混匀,过 0.22 μm 有机滤膜,LC-MS/MS 检测。

1.5 检测条件

1.5.1 色谱条件 色谱柱:Acquity BEH RP18 柱(2.1 mm × 100 mm,1.7 μm);以乙腈(A 相)和 0.1% 甲酸水溶液(B 相)为流动相进行线性梯度洗脱;梯度洗脱程序:0~20 min,A 相的比例由 5% 线性变化至 95%,20~22 min,A 相的比例保持 5%;流速为 0.2 mL/min;进样量:10 μL;柱温:30℃。

1.5.2 质谱条件 电喷雾正负离子电离模式(ESI+ 和 ESI-);毛细管电压 3.0 kV;离子源温度 110℃,脱溶剂气温度:380℃,脱溶剂气速率:550 L/h,锥孔反吹气速率:50 L/h。检测方式为多反应监测扫描(MRM),按保留时间进行农药组分监测。

2 结果与分析

2.1 流动相的选择

本研究分别以甲醇-水、乙腈-水、甲醇-0.1% 甲酸水和乙腈-0.1% 甲酸水为流动相,按照“1.5.1”节中的梯度洗脱条件进行检测,结果表明,0.1% 的甲酸水比水效果好,有利于提高待测物的离子化效率,从而提高待测物的灵敏度。此外,乙腈比甲醇洗脱效果好。以乙腈-0.1% 甲酸水为流动相,农药分离效果最好,色谱峰尖锐、对称,响应灵敏度最高。

2.2 质谱条件的优化

将农药分别配制 1 μg/mL 的单个标准溶液,以蠕动泵注射的方式分别将单标进质谱,在电喷雾(ESI)电离模式下分别对每种农药进行一级全扫描,确定分子离子,并优化得到分子离子响应信号最高时的锥孔电压。然后将其分子离子打碎,进行二级质谱全扫描,每种农药找到 2 个子离子,要求子离子的质核比(m/z)尽量大于 100,且响应信号较稳定,分别优化得到子离子响应信号最高时的碰撞能量,最后以多反应监测(MRM)扫描方式进行扫描。按照残留分析确证检测的要求,每个母离子选择 2 个子离子用来定性,并以丰度较强的子离子用来定量。绝大多数农药在电喷雾正离子模式下(ESI+)均能产生较强的[M+H]⁺分子离子,少数农药在电喷雾负离子模式下(ESI-)[M-H]⁻产生分子离子,如咪草烟和氟磺胺草醚等。

按照保留时间排序,编辑多反应监测扫描方法,进行分段采集。这样可以提高单位时间内离子的扫描次数,从而提高检测灵敏度。最后筛选得到的 77 种农药的保留时间、监测离子对、锥孔电压和碰撞能量见表 1。

2.3 定容溶液的选择

比较了甲醇、乙腈、甲醇-0.1% 甲酸水[V(甲醇):V(0.1% 甲酸水)=80:20]及不同体积分数的甲醇-0.1% 甲酸水[V(甲醇):V(0.1% 甲酸水)=80:20]分别等于 80:20、70:30、60:40 等各种定容溶液对农药的响应值和色谱峰形的影响。结果表明,定容溶液中有有机相比比例较高时,

表 1 供试 77 种农药名称、混标浓度、保留时间、监测离子对、锥孔电压、碰撞能量、定量离子对、检测限和定量限

序号	农药名称	在混合标样 中的质量 浓度($\mu\text{g/mL}$)	保留时间 (min)	监测离子对 (m/z)	锥孔电压 (V)	碰撞能量 (eV)	定量离子对 (m/z)	检测限 ($\mu\text{g/kg}$)	定量限 ($\mu\text{g/kg}$)
1	矮壮素	0.4	1.14	121.8/58.8;121.8/62.7	30	16;16	121.8/58.8	0.6	2
2	灭蝇胺	0.5	1.27	167/60;167/108	32	19;19	167/60	0.75	2.5
3	吡蚜酮	0.5	1.27	218.1/104.8;218.1/78.8	20	20;35	218.1/104.8	0.75	2.5
4	霜霉威	0.2	1.27	189.1/101.7;189.1/143.7	25	17;12	189.1/101.7	0.3	1
5	甲胺磷	1	2.12	142/93.6;142/124.6	22	13;13	142/93.6	1.5	5
6	氧乐果	0.4	2.93	214.1/125.1;214.1/183.1	20	22;11	214.1/125.1	0.6	2
7	多菌灵	0.4	3.50	192.1/159.8;192.1/131.8	27	18;28	192.1/159.8	0.6	2
8	噻菌灵	0.4	4.13	202/175;202/130.8	30	22;30	202/175	0.6	2
9	久效磷	0.4	4.37	224.1/126.8;224.1/97.8	20	16;12	224.1/126.8	0.6	2
10	百治磷	0.4	4.71	238.2/112;238.2/193	17	12;10	238.2/112	0.6	2
11	6-苄基腺嘌呤	1	5.13	226.2/91;226.2/147.9	37	25;17	226.2/91	1.5	5
12	敌百虫	0.4	5.56	257/108.8;257/221	22	16;10	257/108.8	0.6	2
13	3-羟基克百威	1	6.12	238/180.7;238/162.7	28	10;16	238/180.7	1.5	5
14	乐果	0.4	6.66	230.1/124.7;230.1/198.7	18	20;10	230.1/198.7	0.6	2
15	啶虫脒	0.4	6.89	223/125.7;223/55.8	28	20;15	223/125.7	0.6	2
16	三环唑	0.2	7.01	190/163;190/136	35	22;27	190/163	0.3	1
17	磷胺	0.4	7.81	300.1/174.1;300.1/127.1	22	14;25	300.1/174.1	0.6	2
18	环嗪酮	0.2	7.81	253.2/170.9;253.2/70.8	22	15;30	253.2/170.9	0.3	1
19	抑霉唑	0.4	7.84	297.2/158.6;297.2/68.6	30	20;18	297.2/158.6	0.6	2
20	仲丁灵	20	8.33	296.2/164;296.2/132	19	5;11	296.2/132	7	100
21	恶霜灵	10	8.42	279/219;279/132	34	10;34	279/219	5	50
22	速灭威	0.4	8.84	166.2/109;166.2/91	13	11;25	166.2/109	0.6	2
23	甲基硫菌灵	0.4	9.41	343.4/150.8;343.4/311	20	20;10	343.4/150.8	0.6	2
24	克百威	0.4	9.52	222.1/164.8;222.1/122.7	28	16;16	222.1/164.8	0.6	2
25	甲霜灵	0.2	10.07	280.1/219.8;280.1/191.8	20	13;17	280.1/219.8	0.3	1
26	砒啶磺隆	10	10.15	431.9/325.1;431.9/182.1	28	14;22	431.9/182.1	7.5	50
27	福美双	80	10.46	241/87.5;241/119.5	18	9;15	241/87.5	7	50
28	十三吗啉	80	10.48	298/56.7;298/155.7	46	28;34	298/56.7	8.5	100
29	苯哒松	1	10.97	241.1/198.9;241.1/106.8	13	11;25	241.1/198.9	1.5	5
30	异恶草酮	0.4	11.40	240.1/124.8;240.1/88.8	23	18;40	240.1/124.8	0.6	2
31	三唑醇	0.4	11.66	296.2/69.9;296.2/98.8	13	10;15	296.2/69.9	0.6	2
32	烯酰吗啉	0.2	11.72	388.1/300.6;388.1/164.7	35	20;30	388.1/164.7	0.3	1
33	多效唑	0.4	11.87	294.1/70.1;294.1/125.1	36	20;38	294.1/70.1	0.6	2
34	水胺硫磷	1	12.01	291.1/120.8;291.1/230.8	15	30;13	291.1/230.8	1.5	5
35	杀扑磷	0.2	12.35	303.1/84.8;303.1/144.8	13	20;10	303.1/84.8	0.3	1
36	三唑酮	0.2	12.83	294.1/69;294.1/197	25	20;15	294.1/69	0.5	1
37	亚胺硫磷	0.4	12.83	318/159.7;318/76.7	22	22;46	318/159.7	0.6	2
38	烯效唑	0.4	12.93	292.3/69.7;292.3/124.7	28	20;25	292.3/69.7	0.6	2
39	哒嗪硫磷	0.2	12.99	341/189;341/92	40	22;34	341/189	0.3	1
40	敌草胺	0.2	13.06	272/129;272/171	24	16;18	272/129	0.3	1
41	氟菌唑	0.2	13.09	346/277.6;346/59.7	16	10;10	346/277.6	0.3	1
42	戊唑醇	0.4	13.13	308/69.8;308/124.7	34	22;40	308/69.8	0.6	2
43	异稻瘟净	0.2	13.23	289/90.7;289/204.7	12	20;10	289/90.7	0.3	1
44	氟硅唑	0.2	13.23	316/246.7;316/164.7	30	18;28	316/164.7	0.3	1
45	马拉硫磷	0.2	13.6	331/126.7;331/98.7	14	12;24	331/98.7	0.3	1
46	三唑磷	0.2	13.78	314.1/161.9;314.1/118.9	25	18;35	314.1/161.9	0.3	1
47	甲氧虫酰肼	0.4	13.83	369.1/149.1;369.1/313.2	28	18;8	369.1/149.1	0.6	2
48	克瘟散	0.5	14.07	311.3/283;311.3/173	23	13;30	311.3/283	0.2	2.5
49	苯霜灵	0.2	14.17	326.1/148;326.1/91	20	20;34	326.1/148	0.3	1
50	甲基嘧啶磷	0.2	14.42	306.1/163.8;306.1/107.8	30	22;32	306.1/163.8	0.3	1
51	氟酮唑草	0.4	14.42	412/346;412/366	32	23;15	412/346	0.6	2
52	氰霜唑	4	14.54	325/107.5;325/261	20	20;10	325/107.5	6	20

续表 1

序号	农药名称	在混合标样 中的质量 浓度($\mu\text{g/mL}$)	保留时间 (min)	监测离子对 (m/z)	锥孔电压 (V)	碰撞能量 (eV)	定量离子对 (m/z)	检测限 ($\mu\text{g/kg}$)	定量限 ($\mu\text{g/kg}$)
53	苯醚甲环唑	0.2	14.59	406/250.8;406/110.8	40	25;60	406/250.8	0.3	1
54	啶硫磷	0.4	14.59	299.1/162.8;299.1/243	22	22;17	299.1/162.8	0.6	2
55	氟虫腈	80	14.8	437/368;437/290	26	18;28	437/368	8.5	100
56	稻丰散	0.4	14.96	321.1/162.9;321/247	15	11;10	321.1/162.9	0.6	2
57	甲基异柳磷	0.8	15.09	332.4/273;332.4/231	8	5;14	332.4/231	1.2	4
58	地虫硫磷	0.4	15.36	247.1/109;247.1/137	18	20;10	247.1/109	0.6	2
59	吡唑醚菌酯	0.2	15.4	388.1/163;388.1/193.7	25	25;12	388.1/163	0.3	1
60	丙草胺	0.4	15.56	312.4/252.2;312.4/176	18	15;28	312.4/252.2	0.6	2
61	甲拌磷	8	15.56	261/74.7;261/96.7	11	12;32	261/74.7	6.0	40
62	甲基毒死蜱	10	15.71	321.8/124.7;321.8/289.6	28	20;16	321.8/124.7	5.0	50
63	四螨嗪	0.4	15.71	303.1/137.8;303/101.8	17	15;30	303.1/137.8	0.6	2
64	伏杀硫磷	1	15.71	368.2/322;368.2/182	18	10;15	368.2/182	1.5	5
65	丙溴磷	0.4	15.75	372.9/302.6;372.9/127.9	30	20;40	372.9/302.6	0.6	2
66	精噁唑禾草灵	0.4	16.09	362.3/288;362.3/120.8	28	17;25	362.3/288	0.6	2
67	啶禾灵	0.2	16.09	373/299.1;373/91.1	34	18;32	373/299.1	0.3	1
68	精啶禾灵	1	16.2	373.3 /299.1;373.3/90.8	30	19;26	373.3 /299.1	1.5	5
69	烯禾啶	0.4	16.33	328/178;328/282	28	22;10	328/178	0.6	2
70	精吡氟禾草灵	0.2	16.87	384.1/282.1;384.1/328.1	32	22;16	384.1/282.1	0.3	1
71	阿维菌素	4	17.12	895.5/327;895.5/751	70	50;45	895.5/751	6.0	20
72	二甲戊灵	0.4	17.22	282.2/212;282.2/194	15	10;17	282.2/212	0.6	2
73	毒死蜱	2	17.22	349.9/96.7;349.9/197.7	30	32;20	349.9/96.7	3.0	10
74	醚菊酯	0.4	19.43	394.3/177;394.3/106.9	20	15;43	394.3/177	0.6	2
75	丁硫克百威	0.4	19.54	381.5/118;381.5/160	20	22;16	381.5/118	0.6	2
76	咪草烟	4	7.54 ESI -	288.4/244.2;288.4/201.1	20	14;22	288.4/244.2	6.0	20
77	氟磺胺草醚	4	14.17 ESI -	437/195;437/286	50	40;23	437/195	6.0	20

保留时间短(极性强)的农药色谱峰出现前沿现象,而定容溶液中有有机相比例较低时,溶解效果又不太好,保留时间较长(非极性强)的农药响应值会降低。经反复试验证明,定容溶液中有有机相的比例以 70%~75% 为宜,有机相用甲醇或者乙腈都可以,定容效果无明显差别,所以选择了水相以 0.1% 甲酸水为宜。

2.4 样品前处理条件的优化

2.4.1 提取溶剂的选择 本研究比较了乙腈、丙酮、2% 醋酸乙腈的提取效果,结果表明,乙腈的提取效果最好,农药的回收率较高,而且共提取的杂质较少;丙酮提取的杂质较多,不利于后续的净化;采用 2% 醋酸乙腈提取时,酸性和中性农药的回收率较好,但部分碱性农药在酸性溶液中不稳定、提取效果较差。为了使各种不同酸碱性的农药回收率均能满足要求,最终选择乙腈为提取溶剂。

2.4.2 固相吸附剂种类的选择 本研究比较了在农药残留固相萃取中常用的 PSA、GCB、C₁₈、NH₂、弗罗里硅土(Florisil)等几种吸附剂的净化效果。在前期研究的基础上,设计了 3 种净化方案:(1) GCB + PSA + C₁₈ 组合净化,(2) GCB + NH₂ + C₁₈ 组合净化,(3) GCB + Florisil + C₁₈ 组合净化。用 GCB 去除色素类杂质,用 PSA 或 NH₂ 或 Florisil 去除极性杂质,用 C₁₈ 去除非极性杂质。结果表明,Florisil 净化效果不如 PSA 和 NH₂ 净化效果好,PSA 和 NH₂ 的净化效果并无明显区别,但加入 PSA 会使有些含羧基、氟、氯基团的农药回收率降低。因此,本试验选择 GCB + NH₂ + C₁₈ 组合净化,能得到满意的

净化效果。

2.4.3 固相吸附剂用量的确定 本研究比较了在 2 mL 样品液中加入 5、10、15、20、30 mg GCB,分别加入 30、50、100 mg NH₂ 和 C₁₈。结果表明,2 mL 样品液中 GCB 用量以 10 mg 效果最佳,能有效去除色素,使样品液澄清,减小对仪器的污染。当用量小于 10 mg 时,达不到去除色素的效果;当用量大于 10 mg 时,有些农药就会因被吸附而回收率降低。2 mL 样品液中 NH₂ 和 C₁₈ 的用量以 50 mg 效果最佳。在前期研究的基础上,最终形成的样品前处理方法如下:称样 5.00 g,加 10 mL 乙腈,涡旋提取 2 min,加 1 g 氯化钠,涡旋 1 min,4 000 r/min 离心 5 min,乙腈相和水相分层,取 2 mL 上层乙腈溶液于装有 50 mg NH₂、50 mg C₁₈、10 mg GCB 的 10 mL 离心管,振摇 1 min,静置。取上清 0.5 mL,加 0.5 mL 甲醇-水(体积比 50:50),混匀,过 0.22 μm 有机滤膜,LC-MS/MS 测定。

2.5 方法的灵敏度

以 3 倍信噪比($S/N=3$)计算检出限(LOD),以 $S/N=10$ 计算定量限(LOQ)。针对胡萝卜样品,其中添加不同浓度的混合标准溶液,添加浓度水平较低(最低达 0.1 $\mu\text{g/kg}$),通过绘制农药组分面积与浓度的响应曲线,检查确定不可靠的浓度阈值,确定各农药组分的 LOD 值,继而确定各种农药的 LOQ 值,具体结果见表 1。从结果来看,77 种农药在豇豆样品中的 LOD 值和 LOQ 值有差异,LOD 值在 0.3~1.5 $\mu\text{g/kg}$ 之间,LOQ 值在 1~5 $\mu\text{g/kg}$ 之间。

2.6 线性范围与标准曲线

分别配制 77 种农药豇豆样品的 0.5 LOQ、1 LOQ、2 LOQ、5 LOQ、10 LOQ 和 20 LOQ 的系列标准工作溶液,在选定的色谱和质谱条件下进行测定,从结果可以看出,77 种农药在豇豆样品中 0.02 ~ 0.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的范围内线性关系良好,相关系数(r)在 0.990 ~ 0.999 之间。

2.7 方法的准确度与精密度

考虑到国内绝大多数农药残留限量均大于 0.01 mg/kg ,在豇豆中添加混合标准溶液进行回收试验,平行分析 5 次,计算回收率和相对标准偏差。结果表明,在 3 种添加水平下,77 种农药的平均回收率在 77.4% ~ 100.7% 之间,相对标准偏差(RSD)在 6.7% ~ 12.4% 之间,符合检测方法验证的要求。考虑到前处理方法中除杂所用的混合吸附剂的各自作用,开展基质效应对所建立方法的影响分析,进行方法的适用性验证。选择了其他 7 种蔬菜品种甘蓝、油菜、芹菜、茭用茼蒿、辣椒、番茄和胡萝卜,同样在 0.01、0.05、0.1 mg/kg 3 种浓度水平下进行添加回收试验。结果显示,77 种农药在甘蓝中的平均回收率为 77.4% ~ 100.7%, RSD 在 6.7% ~ 12.4% 之间;油菜中的平均回收率为 76.9% ~ 93.1%, RSD 在 5.6% ~ 13.7% 之间;芹菜中的平均回收率为 82.3% ~ 103.4%, RSD 在 7.4% ~ 10.7% 之间;茭用茼蒿中的平均回收率为 77.2% ~ 108.7%, RSD 在 7.8% ~ 11.4% 之间;辣椒中的平均回收率为 78.1% ~ 108.9%, RSD 在 8.1% ~ 10.7% 之间;番茄中的平均回收率为 71.6% ~ 94.0%, RSD 在 5.8% ~ 15.8% 之间;胡萝卜中的平均回收率为 81.2% ~ 92.6%, RSD 在 3.2% ~ 17.6% 之间。表明针对 77 种农药残留所建立的检测方法同样适用于甘蓝、油菜、芹菜、茭用茼蒿、辣椒、番茄和胡萝卜中农药多残留的测定。

3 结论与讨论

本研究根据农药的理化性质,并结合辽宁省的农药使用情况,采用超高效液相色谱-串联质谱分析技术,通过对色谱条件和质谱条件的优化确定,利用改进后的 QuEChERS 方法,建立了不同种类蔬菜中 77 种农药多残留的分析方法。

在定容溶剂的选择试验后,确定了甲醇-0.1% 甲酸水 [$V(\text{甲醇}):V(0.1\% \text{甲酸水})=70:30$] 的定容溶剂。

不同因素对提取净化效果的影响。本研究比较了样品量、提取溶剂、盐析除水剂种类及分散固相吸附剂种类和比例对样品净化效果的影响,确定了合适的取样量、最佳提取溶剂、除水剂和吸附剂用量。结果显示:对于新鲜果蔬样品,取样量与提取溶剂的比例为 1:2 较为合适;因使用 LC-MS/MS 检测技术,没必要把水除尽,所以盐析除水剂只选择氯化钠,未加无水硫酸镁,且含少量水分有利于提高部分农药的回收率,也会改善农药的色谱峰形;最终确定了 2 mL 的提取液选择 $\text{NH}_2 + \text{C}_{18} + \text{GCB}$ 组合净化剂,用量比例为 50 $\text{mg}:50 \text{ mg}:10 \text{ mg}$,能得到更为满意的净化效果。

与传统的 QuEChERS 方法相比,盐析选择更为廉价的氯

化钠,固体吸附剂选择 $\text{NH}_2 + \text{C}_{18} + \text{GCB}$ 组合代替 PSA,净化效果更好,成本更低。

常用的固相吸附剂有伯仲胺(PSA)、氨基粉(NH_2)、 C_{18} 、石墨化炭黑(GCB)等。PSA 是一种弱阴离子交换吸附剂,能通过形成氢键去除脂肪酸、糖及其他基质共萃取物。PSA 和 NH_2 有相同的吸附原理,由于 PSA 同时存在伯胺、仲胺而具有更高的去杂质能力,等量的 PSA 比等量的 NH_2 能去除更多的基质共萃取物。但因 PSA 的结构对含羧酸基团、含氟、含氯物质有保留,因此这些目标分析物的回收率会偏低。石墨化炭黑是炭黑在惰性气体的保护下加热到 2 700 $^{\circ}\text{C}$ 左右生成的一种炭材料。在高温条件下,炭黑内部和表面的大孔隙结构被破坏,表面生成光滑、无孔的石墨晶型结构^[7]。有研究表明 GCB 能够很好地去除色素和固醇类杂质^[8]。

通过所建立的检测新方法,77 种农药在胡萝卜、甘蓝、油菜、芹菜、茭用茼蒿、辣椒、番茄和豇豆 8 种蔬菜中的平均回收率在 77.4% ~ 100.7% 之间, RSD 在 6.7% ~ 12.4% 之间,从所选蔬菜的代表性考虑,该方法在农药残留定量分析中有很好的推广前景。

从所建立的检测方法的操作过程看,该方法简便、快速、安全、成本低廉、重现性良好,具有一次处理样品可同时测定多种农药残留的特点,适合于不同种类蔬菜中多类农药残留的高通量定量检测。

参考文献:

- [1] 谢桂勉. 有机磷农药多残留检测方法的研究进展[J]. 广州化工, 2011, 39(6): 31-33.
- [2] 刘家鹏, 赵列军. 农药残留的快速测定方法简介[J]. 环境科学与管理, 2007, 32(11): 132-134.
- [3] Tang L, Kobarle P. Dependence of ion intensity in electrospray mass spectrometry on the concentration of the analytes in the electrosprayed solution[J]. Anal Chem, 1993, 65(24): 3654-3668.
- [4] 贾彦波, 王清清, 宋海峰. 高效液相色谱-串联质谱法(HPLC-MSⁿ)分析生物样品时的基质效应研究[J]. 军事医学, 2011, 35(2): 149-152.
- [5] 陈丹丹, 张涛, 任丽萍. 基质效应在气相色谱法测定农药残留中的影响[C]//江树人. 农药与环境安全国际会议论文集. 北京: 中国农业大学出版社, 2003: 242-250.
- [6] Anastassiades M, Lehotay S J, Stajnbaher D, et al. Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and “dispersive solid-phase extraction” for the determination of pesticide residues in produce[J]. Journal of AOAC International, 2003, 86(2): 412-431.
- [7] 宋淑玲, 李重九, 马晓东, 等. 蔬菜中残留农药的石墨化炭黑净化和气相色谱-质谱检测方法[J]. 分析化学, 2008, 36(11): 1526-1530.
- [8] 邵华, 金芬, 杨锚, 等. QuEChERS 方法在我国农药残留分析中的应用与前景[J]. 农业质量标准, 2007(增刊): 120-122.