

乐 渊,邓正敏,刘春华,等.多壁碳纳米管净化-超高效液相色谱串联质谱法测定香蕉中 8 种新烟碱类杀虫剂[J].江苏农业科学,2020,48(4):181-186.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2020.04.034

# 多壁碳纳米管净化-超高效液相色谱串联质谱法测定香蕉中 8 种新烟碱类杀虫剂

乐 渊,邓正敏,刘春华,吴南村

(中国热带农业科学院分析测试中心/海南省热带果蔬产品质量安全重点实验室,海南海口 571101)

**摘要:**建立基于多壁碳纳米管净化、超高效液相色谱串联质谱技术同时测定香蕉中呋虫胺等 8 种新烟碱类杀虫剂残留量的分析方法。香蕉样品中用含 1% 乙酸的乙腈提取后,经多壁碳纳米管净化后,用超高效液相色谱-串联质谱法测定。呋虫胺等 8 种新烟碱类杀虫剂的质量浓度在 0.005 ~ 0.200 mg/L 范围内线性良好,最低检出限在 0.03 ~ 0.44  $\mu\text{g}/\text{kg}$  之间,相关系数均大于 0.99,平均加标回收率在 75.2% ~ 114.9% 之间,相对标准差在 0.3% ~ 9.5% 之间。与 *N*-丙基乙二胺和石墨化碳黑吸附剂相比,多壁碳纳米管具有净化效果好和效率高等优点。方法学考察及实际样品的测定证明该方法简便、快速、准确,可用于香蕉中呋虫胺等 8 种新烟碱类杀虫剂残留量的检测。

**关键词:**香蕉;新烟碱类杀虫剂;多壁碳纳米管;超高效液相色谱-串联质谱;加标回收率;残留量

**中图分类号:**S481+.8

**文献标志码:**A

**文章编号:**1002-1302(2020)04-0181-05

新烟碱类杀虫剂作用于昆虫神经系统突触后膜的烟碱乙酰胆碱受体及其周围的神经,使昆虫保持兴奋、麻痹而后死亡<sup>[1]</sup>,由于具有高效率、高选择性、高持效性和对哺乳动物低毒等特点而被广泛应用于农业生产中,在香蕉生产中也可用于防治蓟马、红蜘蛛、夜蛾、香蕉象甲等害虫<sup>[2-3]</sup>。近年来研究表明,新烟碱类杀虫剂对蜜蜂、家蚕和蚯蚓等非靶标生物存在较大毒性,且在香蕉生产过程中过量使用或滥用杀虫剂会造成果实中存在农药残留,易引发生态环境系统和农产品质量安全问题<sup>[4-6]</sup>。因此,开发香蕉中新烟碱类杀虫剂分析方法对于保障香蕉产品质量安全和消费者健康具有重要意义。

美国农业部 Anastassiades 等开发的 QuEChERS 方法是目前各实验室中常用的农药多残留分析的前处理方法,包含液液萃取和微型的固相分散萃取等 2 个步骤<sup>[7]</sup>。QuEChERS 方法的优点是效率高、适用性好和有机溶剂使用量少,但也存在净化能力弱的缺点。为改善 QuEChERS 方法的净化能力,在

常用的 *N*-丙基乙二胺(PSA)、十八烷基键合硅胶( $\text{C}_{18}$ )和石墨化碳黑(GCB)等吸附材料之外,研究新吸附材料成为热点。多壁碳纳米管(MWCNTs)凭借比表面积大、吸附性能好等优点受到研究者的关注,并被应用于农药残留检测领域<sup>[8-10]</sup>。本研究采用多壁碳纳米管作为吸附材料,结合液相色谱-串联质谱仪的可分析农药范围广、灵敏度高和选择性好等特点,探讨建立测定香蕉中呋虫胺等 8 种新烟碱类杀虫剂的改进型 QuEChERS 方法。

## 1 材料与方法

### 1.1 仪器与试剂

主要的试验仪器有 TripleQuad 4500 超高效液相色谱三重四极杆串联质谱仪配有电喷雾离子源(ESI)和 Analyst 1.6.3 工作站(美国应用生物系统公司)、ACQUITY<sub>UPLCTM</sub> BEH  $\text{C}_{18}$  1.7  $\mu\text{m} \times 2.1 \text{ mm} \times 50 \text{ mm}$  色谱柱[沃世特科技(上海)有限公司]、AL204 型电子分析天平[梅特勒-托利多国际贸易(上海)有限公司]、VS-24SMTi 型离心机(美国 VISION 公司)。

主要的试剂有呋虫胺、烯啶虫胺、噻虫嗪、吡虫啉、噻虫胺、啉虫脒、氟啶虫胺胍、噻虫啉等 8 种农药标准品(农业农村部环境保护科研监测所,纯度  $\geq 99\%$ );甲醇、乙腈、甲酸、乙酸(美国 Fisher 公司,色

收稿日期:2018-11-22

基金项目:现代农业产业技术体系建设专项(编号:CARS-31-13);

热带农产品质量安全科技创新团队项目(编号:1630082017002)。

作者简介:乐 渊(1985—),男,江西抚州人,硕士,助理研究员,主要从事农产品质量安全研究。E-mail:leyuan06@sina.com。

谱纯);多壁碳纳米管(天津博纳艾杰尔科技有限公司)外径为 10 ~ 20 nm,内径为 5 nm,长度为 5 ~ 15 μm,使用前在 120 ℃ 下加热 3 h 去除残留的水份;石墨化碳黑吸附剂(GCB)、N-丙基乙二胺吸附剂(PSA)(美国安捷伦科技公司);乙酸铵、乙酸钠、氯化钠(广州化学试剂厂);无水硫酸镁[西格玛-奥德里奇(上海)贸易有限公司];柠檬酸钠和柠檬酸二钠盐倍半水合物(上海阿拉丁生物科技股份有限公司);试验用水为经 Milli-Q 净化系统 0.22 μm 过滤膜过滤的纯化水;香蕉样品购自本地超市和水果批发市场。

1.2 标准溶液的配制

1.2.1 储备液的配制 将呋虫胺等 8 种农药用乙腈配制浓度为 10 mg/L 的混合标准储备液,在 -18 ℃ 下避光保存,有效期为 1 个月。

1.2.2 标准溶液的配制 将上述标准储备液用乙腈稀释成浓度为 0.005、0.010、0.020、0.050、0.100、0.200 mg/L 的系列混合标准溶液,现配现用。取空白香蕉样品按 1.3 方法进行前处理,得到空白香蕉基质溶液。氮吹至近干后,用 1 mL 相应浓度乙腈配制的标准溶液定容,得到基质匹配标准溶液。

1.3 样品前处理

香蕉样品(分为全蕉和蕉肉 2 份)用组织捣碎机捣碎,装入洁净容器内,作为试样密封并于 -18 ℃ 下保存。

准确称取 10.00 g 均质试样于 50 mL 具塞离心

管中,加入 10.0 mL 乙腈(含 1% 乙酸)、1.0 g 乙酸钠、4.0 g 无水硫酸镁和 1 颗陶瓷均质子,剧烈振荡 1 min。然后以 5 000 r/min 的转速离心 5 min。取上清液 1.00 mL 于预先称有 5 mg 多壁碳纳米管和 150 mg 无水硫酸镁的 15 mL 离心管中,涡旋 1 min,再以 5 000 r/min 的转速离心 5 min。上清液经 0.22 μm 聚四氟乙烯微孔膜过滤,待超高效液相色谱三重四极杆串联质谱仪(UPLC-MS/MS)分析。

1.4 仪器工作条件

超高效液相色谱工作条件:流动相 A 为水,流动相 B 为甲醇;柱温为 35 ℃;样品室温度为 15 ℃;进样体积为 3 μL;流速为 0.25 mL/min。梯度洗脱程序见表 1。

表 1 梯度洗脱程序

时间 (min)	流速 (mL/min)	流动相的体积百分比(%)	
		A	B
0	0.25	90	10
1.00	0.25	90	10
1.50	0.25	65	35
5.00	0.25	65	35
5.10	0.25	5	95
5.90	0.25	5	95
6.00	0.25	90	10
7.00	0.25	90	10

质谱工作条件:离子源电喷雾;离子化电压为 5 500 V;温度为 500 ℃;气帘气压力为 207 kPa;喷雾气压力为 379 kPa;辅助加热气压力为 379 kPa;碰撞气压力为 55 kPa。多反应监测模式下的质谱参数见表 2。

表 2 MRM 分析的质谱参数

化合物	保留时间 (min)	母离子的质荷比 (m/z)	子离子的 m/z	去簇电压 (V)	碰撞能量 (eV)
呋虫胺	3.08	203.3	129.2*,87.0	50	16,21
烯啶虫胺	3.30	271.4	126.0*,225.0	50	40,17
噻虫嗪	3.44	292.1	211.0*,181.0	53	17,30
吡虫啉	3.92	256.1	209.1*,175.1	58	24,27
噻虫胺	3.99	250.0	169.1*,132.0	51	17,23
啉虫脒	4.63	223.0	126.0*,99.1	64	26,50
氟啉虫胺腈	5.04,5.29	278.1	174.0*,153.9	50	15,30
噻虫啉	5.74	253.0	126.1*,186.1	75	30,20

注: \* 表示为定量离子对。

2 结果与分析

2.1 UPLC-MS/MS 工作条件的优化

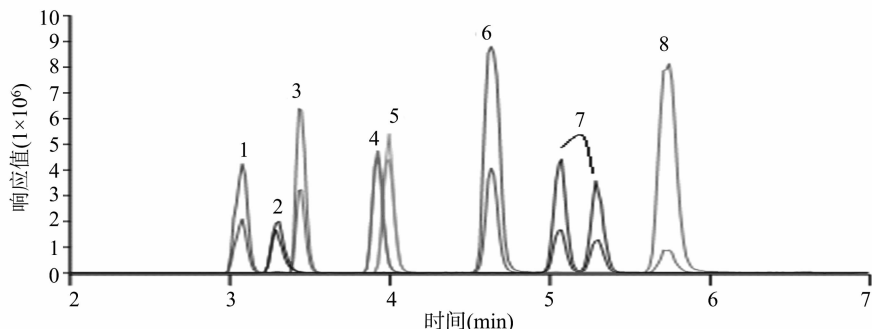
在电喷雾离子源电离模式下,以流动注射方式分别对呋虫胺等 8 种杀虫剂的单标溶液进行母离子

全扫描,再对各自的子离子进行全扫描,每个化合物选择 2 对响应值高的特征离子对作为定量及定性离子对,并进行质谱多反应监测(MRM)参数的优化,优化结果见表 2。

在上述质谱条件下,测试甲醇-0.02% 甲酸水

溶液、甲醇 - 5 mmol/L 乙酸铵水溶液、乙腈 - 5 mmol/L 乙酸铵水溶液、甲醇 - 2 mmol/L 氨水溶液、甲醇 - 水等 5 种流动相体系。结果表明,当使用乙腈作为有机相时,大部分化合物色谱分离度不理想,集中在 2~3 min 时间段内出峰。当使用甲醇 - 水流动相体系时各化合物的分离度较好且响应值

最高,其中吡虫啉、呋虫胺、烯啶虫胺和噻虫啉较甲醇 - 甲酸水溶液和甲醇 - 乙酸铵水溶液体系提高约 3 倍。因此,本试验采用甲醇 - 水作为流动相。图 1 为 MRM 模式下 0.05 mg/L 标准溶液的提取离子流色谱。



1—呋虫胺; 2—烯啶虫胺; 3—噻虫啉; 4—吡虫啉; 5—噻虫胺; 6—啉虫啉; 7—氟啶虫胺腈; 8—噻虫啉

图1 多反应监测模式下的提取离子流色谱

## 2.2 提取条件的选择

由于乙腈的通用性强,对农药的溶解度大,试验选择乙腈作为提取溶剂。为改善一些对 pH 值较为敏感的农药的检测,QuEChERS 方法中常加入醋酸盐缓冲体系或柠檬酸盐缓冲体系<sup>[11-12]</sup>。试验尝试了在提取过程中加入上述 2 种缓冲盐体系,与纯乙腈溶液作为参照,对提取效率进行比较。试验在香蕉空白样品中添加适量标准溶液(添加量为 50  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ),提取后不经净化直接用 UPLC - MS/MS 测定。条件 1:提取溶剂为纯乙腈,后加入 4.0 g 无水硫酸镁和 1.0 g 氯化钠;条件 2:提取溶剂为含 1% 乙酸的乙腈溶液,后加入 4.0 g 无水硫酸镁和 1.0 g 乙酸钠;条件 3:提取溶剂为乙腈,后加入 4.0 g 无水硫酸镁、1.0 g 氯化钠、1.0 g 二水柠檬酸钠和 0.5 g 柠檬酸二钠盐倍半水合物。结果表明,条件 2 的 8 种杀虫剂的提取效率最高,呋虫胺和烯啶虫胺比条件 1 高约 50%,比条件 3 高 20%;其他 6 种杀虫剂比条件 2、3 高约 10%。因此,本试验选择添加醋酸盐缓冲体系的乙腈作为提取条件。

## 2.3 净化条件的选择

为考察 MWCNTs、PSA 和 GCB 对香蕉提取液的净化效果,分别取 1 mL 香蕉提取液,用 3 种条件进行净化:(1) 5 mg MWCNTs + 150 mg 无水硫酸镁;(2) 50 mg PSA + 150 mg 无水硫酸镁;(3) 10 mg GCB + 150 mg 无水硫酸镁。参照文献[13]对色素净化效果进行考察,结果如图 2 所示。PSA 对色素

几乎无净化效果,10 mg GCB 净化了 96% 的叶黄素和全部的叶绿素,5 mg MWCNTs 净化了 99% 的叶黄素和全部的叶绿素。与 GCB 相比,MWCNTs 比表面积更大,还具有中空结构,净化效率更高。因此,本试验选择 5 mg MWCNTs + 150 mg 无水硫酸镁作为净化条件。

## 2.4 方法的线性范围和检出限

按“1.2.2”节配制一系列浓度的呋虫胺等 8 种新烟碱类杀虫剂香蕉基质匹配标准溶液,采用“1.4”节中的方法进行测定,以仪器响应值峰面积对各目标物的质量浓度进行线性回归。结果表明,呋虫胺等 8 种新烟碱类杀虫剂的质量浓度在 0.005~0.200 mg/L 范围内线性良好,相关系数和回归方程见表 3。

以满足方法学要求的最低添加回收水平作为定量限,呋虫胺等 8 种新烟碱类杀虫剂在全蕉和蕉肉中的定量限均为 5  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。检出限采用样品加标方式测定并计算,加标样品经“1.3”节处理后测定,以 8 种杀虫剂检测信号为 3 倍基线噪音时的添加浓度为方法检出限,呋虫胺等 8 种新烟碱类杀虫剂的检出限见表 3。

## 2.5 方法的精密度和回收率

取空白香蕉样品,按 5、10、50  $\mu\text{g}/\text{kg}$  3 个水平进行加标试验,按“1.3”节进行前处理,平行测定 6 次,作回收率和精密度试验。结果(表 4)表明,呋虫胺等 8 种新烟碱类杀虫剂在全蕉中平均回收率在

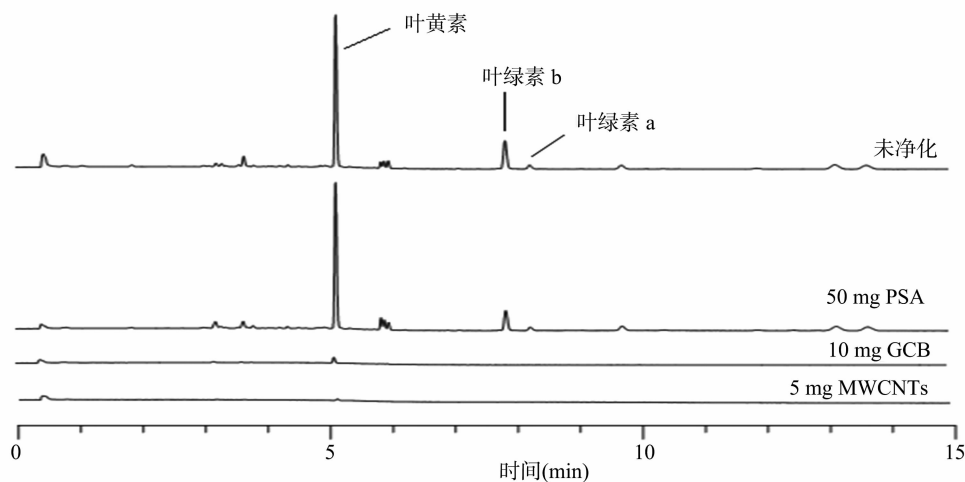


图2 3 种条件净化香蕉提取液的超高效液相色谱-光电二极管阵列检测器色谱

表 3 8 种新烟碱类杀虫剂的线性方程、相关系数和检出限

杀虫剂	样品	线性方程	相关系数 ( $r^2$ )	检出限 ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )
呋虫胺	全蕉	$y = 1.48 \times 10^8 x - 1.08 \times 10^4$	0.999 9	0.44
	蕉肉	$y = 1.89 \times 10^8 x + 1.67 \times 10^5$	0.998 8	0.41
烯啶虫胺	全蕉	$y = 1.17 \times 10^8 x - 2.43 \times 10^4$	0.998 9	0.12
	蕉肉	$y = 1.29 \times 10^8 x - 3.84 \times 10^4$	0.990 0	0.09
噻虫嗪	全蕉	$y = 2.08 \times 10^8 x + 1.87 \times 10^5$	0.999 8	0.05
	蕉肉	$y = 3.06 \times 10^8 x - 7.58 \times 10^4$	0.998 5	0.05
吡虫啉	全蕉	$y = 9.40 \times 10^7 x + 3.51 \times 10^5$	0.997 0	0.07
	蕉肉	$y = 2.26 \times 10^8 x + 9.31 \times 10^4$	0.999 9	0.04
噻虫胺	全蕉	$y = 2.22 \times 10^8 x + 5.11 \times 10^4$	0.999 3	0.11
	蕉肉	$y = 2.30 \times 10^8 x - 2.58 \times 10^3$	0.999 7	0.11
啶虫脒	全蕉	$y = 4.86 \times 10^8 x + 1.02 \times 10^6$	0.997 1	0.04
	蕉肉	$y = 7.97 \times 10^8 x + 5.60 \times 10^3$	0.995 0	0.04
氟啶虫胺胍	全蕉	$y = 3.40 \times 10^8 x + 4.03 \times 10^4$	0.991 0	0.10
	蕉肉	$y = 3.78 \times 10^8 x - 8.14 \times 10^4$	0.994 9	0.08
噻虫啉	全蕉	$y = 6.95 \times 10^8 x + 1.96 \times 10^5$	0.999 9	0.05
	蕉肉	$y = 7.78 \times 10^8 x + 3.36 \times 10^5$	0.999 5	0.03

80.2% ~ 114.9% 之间, 相对标准差在 0.3% ~ 3.5% 之间; 在蕉肉中平均回收率在 75.2% ~ 102.0% 之间, 相对标准差在 0.5% ~ 9.5% 之间; 均满足 NY/T 788—2004《农药残留试验准则》中农药残留分析方法要求<sup>[14]</sup>。

2.6 基质效应

基质效应是指样品分析液中除分析物以外的共流出组分改变了分析物的响应值, 从而影响定量分析的准确度和重现性, 其机制可能是共流出组分影响了电喷雾接口的离子化效率<sup>[15]</sup>。通过测定呋虫胺等 8 种新烟碱类杀虫剂在香蕉基质匹配标准溶液中校正曲线的斜率( $A$ )及其在纯溶剂标准溶液中校正曲线的斜率( $B$ ), 得到基质效应(matrix effect, 简称  $ME$ ) =  $(A - B)/B \times 100\%$ 。若  $ME > 0$ , 则表示

基质对分析物的响应产生增强效应; 若  $ME < 0$ , 则表示基质对分析物的响应产生抑制效应; 若  $ME = 0$ , 则表示不存在基质效应。当  $-20\% \leq ME \leq 20\%$  时, 基质干扰程度较低; 当  $-50\% \leq ME < -20\%$  或  $20\% < ME \leq 50\%$  时, 表示为中等程度的基质干扰效应; 当  $ME < -50\%$  或  $ME > 50\%$ , 表示基质干扰程度强烈<sup>[16]</sup>。表 5 为香蕉基质中呋虫胺等 8 种新烟碱类杀虫剂的基质效应。

结果表明, 呋虫胺等 8 种新烟碱类杀虫剂均表现为基质抑制效应。在全蕉中, 噻虫啉干扰程度较低, 啶虫脒、噻虫嗪、呋虫胺、烯啶虫胺和氟啶虫胺胍等 5 种杀虫剂表现为中等程度的基质干扰效应, 吡虫啉、噻虫啉基质效应干扰强烈。在蕉肉中, 8 种新烟碱类杀虫剂基质干扰程度均较低。

表 4 方法平均回收率、相对标准偏差 (n=6)

杀虫剂	样品	回收率及相对标准差 (%)		
		5 μg/kg	10 μg/kg	50 μg/kg
呋虫胺	全蕉	97.6(1.3)	101.6(0.3)	106.1(1.8)
	蕉肉	99.5(2.4)	94.0(0.9)	100.1(0.9)
烯啶虫胺	全蕉	80.2(0.9)	81.7(1.1)	89.1(2.6)
	蕉肉	75.6(1.3)	78.1(1.5)	78.6(4.2)
噻虫嗪	全蕉	93.1(1.6)	87.4(1.2)	91.7(0.9)
	蕉肉	76.9(4.2)	80.9(0.5)	78.0(7.5)
吡虫啉	全蕉	103.2(2.3)	100.0(2.7)	108.3(1.2)
	蕉肉	78.6(3.7)	81.3(2.5)	83.6(9.5)
噻虫胺	全蕉	98.8(2.6)	98.5(2.1)	101.4(2.2)
	蕉肉	75.2(2.9)	76.7(1.6)	79.8(6.0)
啉虫脒	全蕉	102.1(3.5)	105.8(1.8)	102.1(2.4)
	蕉肉	89.8(1.1)	95.3(2.7)	91.4(5.6)
氟啶虫胺胍	全蕉	108.3(0.9)	110.3(0.3)	114.9(1.7)
	蕉肉	97.7(1.4)	102.0(0.8)	97.6(0.5)
噻虫啉	全蕉	100.2(2.9)	102.1(0.4)	100.0(1.6)
	蕉肉	96.6(0.8)	97.1(1.3)	94.6(4.0)

表 5 香蕉基质中 8 种新烟碱类杀虫剂的基质效应

杀虫剂	基质效应 (%)	
	全蕉	蕉肉
呋虫胺	-25.2	-4.3
烯啶虫胺	-25.9	-1.2
噻虫嗪	-38.6	-9.6
吡虫啉	-63.7	-12.7
噻虫胺	-68.7	-13.8
啉虫脒	-43.1	-6.7
氟啶虫胺胍	-22.6	-3.5
噻虫啉	-12.5	-2.1

为消除基质效应所带来的干扰,提高分析结果的准确度,常采用标准加入法、基质匹配标准溶液、使用分析保护试剂和同位素内标法等<sup>[17-18]</sup>。在农药残留分析中,最常见的是用基质匹配标准溶液进行消除。从分析结果可知,当只须要测定全蕉中噻虫啉和蕉肉中 8 种新烟碱类杀虫剂时,由于基质效应较弱可直接使用溶剂标准溶液进行定量;当须要测定全蕉中其他 7 种新烟碱类杀虫剂时,就须要使用基质匹配标准溶液,才能定量准确。

2.7 实际样品的测定

采用本试验建立的方法测定采集于本地 4 个超市和 1 个水果批发市场的 15 份香蕉样品。其中 2 份全蕉样品检出啉虫脒,含量分别为 0.040、0.012 mg/kg,均低于《GB 2763—2016 食品安全国家标准 食品中农药残留最大限量》中规定的最大残留限量值 2 mg/kg<sup>[19]</sup>。相应的蕉肉样品中啉虫脒为未检出,表明啉虫脒主要残留于香蕉果皮中。其他样品均未检出呋虫胺等 8 种新烟碱类杀虫剂。

3 结论

本研究建立一种基于多壁碳纳米管的净化方法,结合 UPLC-MS/MS 的高分辨能力来快速检测香蕉中呋虫胺等 8 种新烟碱类杀虫剂残留量。与 N-丙基乙二胺和石墨化碳黑等吸附剂相比,多壁碳纳米管具有色素净化效果好、效率高等优点。本试验优化了超高效液相色谱与质谱的采集参数并考察了基质效应,方法学考察及实际样品测定证明该方法具有简便、快速、准确度高等优点,可用于香蕉中呋虫胺等 8 种新烟碱类杀虫剂残留量的检测,具有一定的推广价值。在香蕉生产过程中使用的农药,除新烟碱类杀虫剂外还包括有机磷类、菊酯类杀虫剂、杀菌剂和植物生长调节剂等,将该方法延伸至更多目标物,能有效提高食品安全检测效率,将会是未来研究的一个关注点。

参考文献:

[1] Goulson D. Review: an overview of the environmental risks posed by neonicotinoid insecticides[J]. Journal of Applied Ecology, 2013, 50 (4): 977-987.

[2] 李强,付步礼,邱海燕,等. 滴灌施药技术防治香蕉黄胸蓟马应用展望[J]. 农学报, 2018, 8(4): 14-18.

[3] Poulsen M E, Andersen J H, Petersen A, et al. Results from the Danish monitoring programme for pesticide residues from the period 2004-2011[J]. Food Control, 2017, 74: 25-33.

[4] Tosi S, Burgio G, Nieh J C. A common neonicotinoid pesticide, thiamethoxam, impairs honey bee flight ability [J]. Scientific Reports, 2017, 7(1): 1201.

[5] 袁锐,李丽莉,李超,等. 六种新烟碱类杀虫剂对凹唇壁蜂的毒性及风险评估[J]. 昆虫学报, 2018, 61(8): 950-956.

[6] 李田田,郑珊珊,王晶,等. 新烟碱类农药的污染现状及转化行为研究进展[J]. 生态毒理学报, 2018, 13(4): 9-21.

[7] Anastassiades M, Lehota S J, Stajnbaher D, et al. Fast and easy multi-residue method employing acetonitrile extraction/partitioning an “dispersive solid-phase extraction” for the determination of pesticide residues in produce [J]. Journal of AOAC International, 2003, 86(2): 412-431.

[8] Hou X, Lei S, Qiu S, et al. A multi-residue method for the determination of pesticides in tea using multi-walled carbon nanotubes as a dispersive solid phase extraction absorbent [J]. Food Chemistry, 2014, 153: 121-129.

[9] Jakubus A, Tyma M, Stepnowski P, et al. Application of passive sampling devices based on multi-walled carbon nanotubes for the isolation of selected pharmaceuticals and phenolic compounds in water samples - possibilities and limitations [J]. Talanta, 2017, 164: 700-707.

[10] Han Z, Jiang K, Fan Z, et al. Multi-walled carbon nanotubes -

白俊岩,高慢慢,孙磊,等. 有机磷水解酶对甲基对硫磷的快速降解及检测[J]. 江苏农业科学,2020,48(4):186-191.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2020.04.035

# 有机磷水解酶对甲基对硫磷的快速降解及检测

白俊岩<sup>1</sup>, 高慢慢<sup>1</sup>, 孙磊<sup>2</sup>, 程书梅<sup>1</sup>, 霍书英<sup>2</sup>

(1. 河北农业大学食品科技学院, 河北保定 071000; 2. 河北农业大学动物医学院, 河北保定 071000)

**摘要:**甲基对硫磷是一种毒性较强的有机磷农药,常被用作菜农用作杀虫剂,有机磷水解酶可通过切断甲基对硫磷中的 P=O 键实现对甲基对硫磷的快速、高效降解。通过对有机磷水解酶降解条件进行优化,得到有机磷水解酶最优的农药降解条件:酶浓度为 1:1 000、pH 值为 8、降解温度为 37 ℃、降解时间为 10 min。通过气相色谱法测得有机磷水解酶对 1.5、10 μg/mL 甲基对硫磷的降解率均达到 98% 以上,因此在生产中有有机磷水解酶可作为针对甲基对硫磷的高效快速降解酶进行推广使用。

**关键词:**甲基对硫磷;有机磷水解酶;对硝基酚;快速降解;农药残留

**中图分类号:**S481+.8;X592 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2020)04-0186-06

我国是一个传统的农业大国,农药的使用量一直居于世界首位,每年达 80 万~100 万 t<sup>[1]</sup>。为减轻病虫害对农产品的影响,滥用农药的现象经常发生。由于农药残留检测方法受限,管理监察力度不够,高毒农药的生产以及使用情况时有发生,造成水果蔬菜等农产品质量下降,农药残留量超标,严

重危害人类的健康<sup>[2]</sup>。

甲基对硫磷是一种毒性较强的有机磷农药,虽然已被国家禁用,但总有菜农偷偷用来作高效杀虫剂,有机磷农药的广泛使用在提高农产品质量和产出的同时也存在食品安全隐患<sup>[3]</sup>。因此,严格进行食用蔬菜有机磷农药残留的检测和控制,对于保证蔬菜品质、维护人类健康、减少土壤污染和保护环境非常重要。2011 年,黄文水报道了蔬菜中甲基对硫磷农药残留的多种检测方法,包括气相色谱法、高效液相色谱法、气相色谱-质谱联用技术等在内的诸多仪器检测方法,但这些方法均存在操作步骤繁多、回收率低、对技术条件要求高、不易广泛推广

收稿日期:2018-12-16

基金项目:国家重点研发计划(编号:2016YFF0202302-03)。

作者简介:白俊岩(1994—),女,河北承德人,硕士研究生,研究方向为食品工程。E-mail:1129901984@qq.com。

通信作者:霍书英,博士,副教授,从事农药残留和生殖内分泌研究。  
E-mail:huoshuying@163.com。

based magnetic solid-phase extraction for the determination of zearalenone and its derivatives in maize by ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. Food Control,2017,79:177-184.

[11] Lehotay S J. Determination of pesticide residues in foods by acetonitrile extraction and partitioning with magnesium sulfate: collaborative study[J]. Journal of AOAC International,2007,90(2):485-520.

[12] Foods of plant origin-Determination of pesticide residues using GC-MS and/or LC-MS/MS following acetonitrile extraction/partitioning and clean-up by dispersive SPE-QuEChERS-method; European Standard EN 15662[S]. Brussels; Europe and Committee for Standardization,2008.

[13] 田海英,韦凤杰,张东豫,等. RP-HPLC 法测定烟草中的质体色素[J]. 烟草科技,2009(4):32-36.

[14] 农药残留试验准则:NY/T 788—2004[S]. 北京:中国农业出版社,2004.

[15] Krue A, Künnapas A, Herodes K, et al. Matrix effects in pesticide

multi-residue analysis by liquid chromatography-mass spectrometry[J]. Journal of Chromatography A,2008,1187(1/2):58-66.

[16] 刘进奎,秦珊珊,冯书惠,等. 高效液相色谱-串联质谱法测定食用菌中农药多残留的基质效应[J]. 食品科学,2016,37(18):171-177.

[17] Garrido F A, Martínez V J L, Fernández M J L, et al. Compensation for matrix effects in gas chromatography-tandem mass spectrometry using a single point standard addition[J]. Journal of Chromatography A,2009,1216(23):4798-4808.

[18] Martínez-Galera M, López-López T, Gil-García M D, et al. A comparative study of the correction of systematic errors in the quantitation of pyrethroids in vegetables using calibration curves prepared using standards in pure solvent[J]. Analytical and Bioanalytical Chemistry,2003,375(5):653-660.

[19] 食品安全国家标准 食品中农药残留最大限量:GB 2763—2016[S]. 北京:中国标准出版社,2017.