

固相萃取法-气相色谱-质谱法快速测定水果中 36 种农药残留

周雪^{1,2}, 陈婷婷^{1,2}, 李婉蓉^{1,2}, 刘学^{1,2}, 吴林菁^{1,2}, 张嫩玲^{1,2}

(1. 贵州医科大学中药药剂学教研室(贵州省特色药用植物资源高效利用工程中心, 贵阳市-贵州医科大学天然药物药理与成药性评价联合实验室, 贵州省普通高等学校天然药物药理与成药性评价特色重点实验室, 贵州医科大学天然药物资源优效利用重点实验室), 药学院, 贵州医科大学, 贵州贵安 550025)

(2. 省部共建药用植物功效与利用国家重点实验室(贵州医科大学), 贵州贵阳 550014)

摘要: 在固相萃取柱, 样品提取溶剂及淋洗液体积的选择基础上, 建立了水果中36种农药残留的气相色谱-质谱法(GC/MS)检测方法。水果样品经乙腈提取, 采用石墨化碳黑/氨基柱(PC/NH₂)净化后, 用GC/MS单离子监测扫描模式(SIM)进行检测, 基质匹配溶液外标法定量。各个目标物在70.00 ng/mL~560.0 ng/mL范围内呈良好的线性相关, 相关系数(R²)均不小于0.990, 方法的检出限(LOD, S/N=3)为0.0001~0.0018 mg/kg, 定量限(LOQ, S/N=10)为0.0002~0.0060 mg/kg。分别在提子基质中做低、中、高3个添加水平的加标回收试验, 该方法的平均回收率为60.6%~116.5%, 相对标准偏差RSD(n=6)在0.8%~9.5%之间。该方法前处理步骤简便, 基质经固相萃取柱净化后的效果满意, 特异性更强, 适用范围广, 适用于仁果类及小型攀缘类水果中多组分农残的筛查和确证工作。

关键词: 固相萃取; 气相色谱串联质谱; 农药残留; 水果; 定量分析

文章编号: 1673-9078(2018)10-205-213

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2018.10.028

Rapid Determination of 36 Pesticide Residues in Fruits by Solid-phase Extraction-Gas Chromatography-Mass Spectrometry

ZHOU Xue^{1,2}, CHEN Ting-ting^{1,2}, LI Wan-rong^{1,2}, LIU Xue^{1,2}, WU Lin-jing^{1,2}, ZHANG Nen-ling^{1,2}

(1. Chinese Medicine Pharmacy Teaching and Research Office(Engineering Center for Efficient Utilization of Medicinal Plant Resources in Guizhou, The GMC-Guiyang City United Laboratory for Natural Medicinal Pharmacology and Drugability, The High Educational Key Laboratory of Natural Medicinal Pharmacology and Drugability, Key Laboratory of Optimal Utilization of Natural Medicine Resources), School of Pharmaceutical Sciences, Guizhou Medical University, Guiyan New District, Guizhou 550025, China) (2.State Key Laboratory of Functions and Applications of Medicinal Plants (Guizhou Medical University), Guiyang 550014, China)

Abstract: A gas chromatography-mass spectrometry (GC/MS) method for the determination of 36 pesticide residues in fruits was established on the basis of the selection of solid phase extraction column, extraction solvent and eluent volume. The fruit samples were extracted with acetonitrile, purified by graphitized carbon black/amino solid-phase column (PC/NH₂), analyzed by GC/MS with the single ion monitoring scanning mode (SIM), and quantified by the matrix-matched method with external standards. All the targeted substances showed a good linear correlation in the range of 70.00 ng/mL~560.0 ng/mL, with the correlation coefficients (R²) not less than 0.990. The limit of detection (LOD) of the method ranged in 0.0001~0.0018 mg/kg when the signal/noise (S/N) ration =3, with the limit of quantification (LOQ) in the range of 0.0002~0.0060 mg/kg (S/N=10). The spiked recovery tests were carried out at low, medium and high levels of the extraction matrix. The average recovery of the method ranged in 60.6%~116.5% with the relative standard deviations (RSDs, n=6) in the range of 0.8%~9.5%.

The results demonstrated that the method is simple and the outcome of purification of matrix by solid phase extraction was satisfactory.

收稿日期: 2018-05-15

基金项目: 贵州省科技支撑计划项目(黔科合支撑[2017]2890); 贵州省高层次创新型人才百层次人才(贵州省科技厅黔科合人才[2015]4029号); 贵州省科技创新团队(黔科合人才团队[2015]4025号); 贵州省高等学校科技创新人才团队(黔教合人才团队字[2014]31)

作者简介: 周雪(1989-), 女, 硕士, 讲师, 研究方向: 药物制剂研究与质量监控

通讯作者: 张嫩玲(1984-), 女, 博士, 副教授, 研究方向: 中药活性成分发现

Owing to high specificity and broad range of application, this method is suitable for screening and verification of multicomponent pesticide residues in pome fruits and small climbing fruits.

Key words: solid-phase extraction (SPE); gas chromatography-mass spectrometry (GC/MS); pesticide residues; fruits; quantitative analysis

水果是百姓餐桌上每天的必备食品, 与我们的生活息息相关。农药是农产品生产过程中必不可少的原料, 但是, 近些年由于使用者普遍缺乏科学使用农药的知识, 片面追求产量或延长保存期限, 造成目前市场上流通的水果都不同程度地存在农药残留问题, 对人体的健康造成一定危害。

目前, 农残的检测方法主要有色谱法及色谱-质谱联用法, 特别是多组分农药残留的定量检测及筛查多集中于色谱串联单极质谱 (MS) 定量、色谱串联三重四级杆质谱 (MS/MS) 定量及飞行时间质谱 (TOF-MS) 筛查等方式^[1-4], 而其中的气相色谱-质谱联用技术既具有气相色谱的高分离效能, 又利用了质谱准确鉴定化合物结构的特点, 特别是应用三重四级杆质谱仪的多反应监测模式 (MRM) 监测, 它能有效的消除杂质干扰, 提高灵敏度, 已广泛应用于农药残留检测中^[5], 但截止到目前水果中农药残留检测的国家标准中还未利用 MRM 模式进行定量, 大多数定量模式还是要依靠单离子模式 (SIM) 检测。所以在 SIM 采集模式下, 要想降低杂质的离子串扰问题, 那么前处理中的净化阶段就显得非常重要^[6]。通常水果基质的净化方式主要以分散固相萃取 (MSPD) 法和固相萃取 (SPE) 法居多^[7,8], 虽然 MSPD 法操作简单, 快捷, 特别适合批量处理。但是作者在实验中发现, MSPD 法净化效果不如 SPE 法对杂质的净化更彻底, 且相关国家标准中多数是利用 SPE 净化。目前我国颁布的多组分农残检测的国标及行标主要有 NY/T 761-2008、GB/T 5009.218-2008 及 GB 23200.8-2016 等, NY/T 761-2008 主要是利用气相色谱法对蔬菜和水果中有机磷、有机氯、拟除虫菊酯和氨基甲酸酯类农药的测定, 但气相色谱的灵敏度低, 且仅靠保留时间定性, 而蔬菜水果基质复杂, 当前处理净化不当容易导致杂质干扰严重从而发生错判。GB/T 5009.218-2008 为水果及蔬菜中多种农药残留量的测定, 该法前处理步骤繁琐, 不仅需要凝胶净化, 还需要旋转蒸发进行多次浓缩, 耗时较长。所以本研究在参照相关的国家标准及文献基础上, 通过实验比较常用的 3 种固相萃取柱的净化效果, 选择出可靠的净化柱, 并结合气相色谱-质谱法测定以无籽提为代表的水果中典型的 36 种有机氯、菊酯类农药残留, 本方法与相关的国家标准相比, 操作更加简单^[9], 实验结果满意, 可对仁果类及小型攀缘类水果

中的多组分农药残留进行准确的定量检测。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

布鲁克 Scion-TQ 三重四级杆质谱联用仪, 美国 BRUKER 公司; Milli-Q 去离子水发生器, 美国 Millipore 公司; T10 高速均质仪, 德国 IKA 公司; 高速冷冻离心机, 上海卢湘仪离心机仪器有限公司; HGC-36A 氮吹仪。

7 种菊酯混标, 1000 $\mu\text{g/mL}$, 美国 O2Si 公司; 其余 29 种农药标准品均购于农业部环境保护科研监测所; 无水 Na_2SO_4 , NaCl, 优级纯, 天津科密欧试剂公司; 甲醇、乙腈、丙酮 (色谱纯), 美国 TEDIA 公司; Carb/NH₂ 固相萃取柱 (500 mg/6 mL), 杭州富裕科技服务有限公司; Cleanert PC/NH₂ 固相萃取柱 (1000 mg/6 mL), 天津博纳艾杰尔公司; Pro Elut TPC 固相萃取柱 (6 mL), 迪马公司; 苹果、梨、无籽提购于贵阳超市。

1.2 检测方法

1.2.1 标准储备液及工作液的配制

分别称取 36 种农药 (23 种有机氯农药及 13 种菊酯农药) 标准溶液用丙酮溶解并定容至 10 mL, 配置成单个标准溶液, 然后吸取不同体积的单个标准溶液混匀后配置成混合标准溶液, $-4\text{ }^\circ\text{C}$ 保存, 待用。

1.2.2 样品制备

切取水果试样 (梨、苹果、提子) 的食用部分放入食品加工机内搅碎匀浆, 过滤, 称取 20 g 水果滤液试样于 50 mL 离心管中, 加入 $2 \times 20\text{ mL}$ 乙腈, 用均质器在 15000 r/min 匀浆提取 1 min, 加入 5 g NaCl, 再匀浆提取 1 min, 将离心管放入离心机, 在 10000 r/min 冷冻离心 5 min, 取上清液全部转移到旋转蒸发瓶中, 浓缩至 1 mL 左右, 待净化。在 Cleanert PC/NH₂ 柱中加入约 1 cm 高无水硫酸钠, 加样前先用 5 mL 乙腈-甲苯溶液 (3+1) 预洗柱, 当液面到达硫酸钠的顶部时, 迅速将样品浓缩液转移至净化柱上, 再每次用 4 mL 乙腈-甲苯溶液 (3+1) 分三次洗涤样液瓶, 并将洗涤液移入柱中。收集洗脱液氮吹至近干, 加入 1 mL 正己烷混匀后, 用于气相色谱-质谱测定。

1.2.3 仪器条件

色谱柱: Agilent DB-5MS 石英毛细管色谱柱 (30×0.25 mm×0.25 μm), 载气: 氦气, 纯度≥99.999%; CID 气: 氩气, 分流模式: 不分流进样, 进样口温度: 250 °C, 电离模式: 电子轰击离子化(EI), 电离能量: 70 eV, 分析模式: SIM, 离子源温度: 230 °C, 传输

线温度: 280 °C, 恒线速度: 44 cm/s, 进样量: 1.0 μL。程序升温条件: 起始温度 50 °C, 保持 2 min, 以 10 °C/min 升至 180 °C, 保持 1 min, 再以 5 °C/min 升至 240 °C 保持 4 min, 再以 10 °C/min 升至 280 °C 保持 4 min, 共 40 min。溶剂延迟 14.0 min。

表1 36种农药保留时间及质谱条件参数

Table 1 Retention times and GC/MS conditions of the 36 Pesticide

序号	名称	保留时间/min	分子式	分子量	CAS 号	驻留时间/ms	定量离子		定性离子	
							<i>m/z</i>	<i>m/z</i>	<i>m/z</i>	<i>m/z</i>
1	Ethofenprox (醚菊酯)	15.47	C ₂₅ H ₂₈ O ₃	376.49	80844-07-1	100	206	59	263	195
2	Alpha-HCH (α-666)	16.53	C ₆ H ₆ Cl ₆	290.83	58-89-9	100	183	217	181	254
3	Beta-HCH (β-666)	17.25	C ₆ H ₆ Cl ₆	290.83	58-89-9	100	219	217	181	254
4	Quintozene (五氯硝基苯)	17.37	C ₆ C ₁₅ NO ₂	295.34	82-68-8	30	249	237	295	265
5	Gamma-HCH (γ-666)	17.50	C ₆ H ₆ Cl ₆	290.83	58-89-9	100	219	217	181	254
6	Chlorothalonil (百菌清)	18.18	C ₈ N ₂ C ₁₄	265.91	1897-45-6	15	268	266	109	264
7	Delta-HCH (δ-666)	18.39	C ₆ H ₆ Cl ₆	290.83	58-89-9	100	219	217	181	254
8	Aldrin(艾氏剂)	20.91	C ₁₂ H ₈ C ₁₆	364.93	309-00-2	15	263	265	293	329
9	Dicofol (三氯杀螨醇)	21.40	C ₁₄ H ₉ Cl ₅ O	370.49	115-32-2	30	141	251	139	250
10	Isodrin (异艾氏剂)	21.88	C ₁₂ H ₈ C ₁₆	364.91	465-73-6	100	329	193	263	195
11	Oxychlorthane Solution (氧氯丹)	22.25	C ₁₀ H ₄ C ₁₈ O	423.76	27304-13-8	100	115	185	387	263
12	Procymidone (腐霉利)	22.71	C ₁₃ H ₁₁ C ₁₂ NO ₂	284.14	32809-16-8	15	96	283	285	147
13	Endosulfan I (a-硫丹)	23.52	C ₉ H ₆ Cl ₆ O ₃ S	406.93	959-98-8	30	241	265	339	-
14	p,p-DDE (p,p-滴滴伊)	24.37	C ₁₄ H ₈ Cl ₄	315.90	72-55-9	100	318	316	246	248
15	Dieldrin (狄氏剂)	24.44	C ₁₂ H ₈ C ₁₆ O	380.91	60-57-1	15	263	277	380	345
16	p,p-DDD (p,p-滴滴滴)	24.59	C ₁₄ H ₁₀ Cl ₄	318.00	72-54-8	100	325	237	199	165
17	Chlorfenapyr (虫螨腈)	25.01	C ₁₅ H ₁₁ BrClF ₃ N ₂ O	407.61	122453-73-0	15	59	247	137	75
18	Endrin (异狄氏剂)	25.15	C ₁₂ H ₈ C ₁₆ O	380.90	72-20-8	100	281	263	317	345
19	beta-Endosulfan (β-硫丹)	25.55	C ₉ H ₆ Cl ₆ O ₃ S	406.93	33213-65-9	30	241	265	339	-
20	o,p-DDT (o,p-滴滴涕)	25.84	C ₁₄ H ₉ Cl ₅	351.90	789-02-6	100	235	237	199	165
21	Endosulfan Sulfate (硫代硫酸酯)	26.83	C ₉ H ₆ Cl ₆ O ₄ S	422.92	1031-07-8	100	272	387	389	-
22	p,p-DDT(p,p-滴滴涕)	27.26	C ₁₄ H ₉ Cl ₅	351.90	50-29-3	100	165	235	237	199
23	Methoxychlor (甲氧滴滴涕)	27.72	C ₁₆ H ₁₅ Cl ₃ O ₂	345.65	72-43-5	100	227	228	212	196
24	Tetramethrin (胺菊酯)	28.83	C ₁₉ H ₂₅ NO ₄	331.41	7696-12-0	100	164	123	232	165
		29.21								
25	Bifenthrin (联苯菊酯)	29.11	C ₂₃ H ₂₂ ClF ₃ O ₂	445.74	82657-04-3	15	181	166	165	-
26	Fenpropathrin (甲氰菊酯)	29.48	C ₂₂ H ₂₃ NO ₃	349.43	39515-41-8	30	181	265	349	-
27	Cyhalothrin (氯氟氰菊酯)	31.25	C ₂₃ H ₁₉ ClF ₃ NO ₃	449.85	91465-08-6	30	181	197	208	-
28	Acrinathrin (氟丙菊酯)	31.88	C ₂₆ H ₂₁ F ₆ NO ₅	541.44	101007-06-1	100	93	181	289	247
		32.54								
29	Permethrin (氯菊酯)	34.11	C ₂₁ H ₂₀ Cl ₂ O ₃	391.29	52645-53-1	15	183	184	255	-
		35.00								
		35.20								
		35.29								
30	Cyfluthrin (氟氯氰菊酯)	35.39	C ₂₂ H ₁₈ Cl ₂ FNO ₃	434.29	68359-37-5	15	163	206	226	199

转下页

接上页

			35.57							
31	Cypermethrin (氯氰菊酯)	$C_{22}H_{19}Cl_2NO_3$	35.84 35.85 35.86	832.59	52315-07-8	15	181	152	180	-
32	Flucythrinate(氟氰戊菊酯)	$C_{26}H_{23}F_2NO_4$	35.82 36.21	451.48	70124-77-5	15	163	206	226	199
33	Silafluofen(氟硅菊酯)	$C_{25}H_{29}FO_2Si$	36.34	408.20	105024-66-6	100	258	287	286	-
34	Fenvalerate(氟戊菊酯)	$C_{25}H_{22}ClNO_3$	36.96 37.28	419.90	51630-58-1	15	225	161	181	419
35	Tau-fluvalinate(氟胺氰菊酯)	$C_{26}H_{22}ClF_3N_2O_3$	37.20 37.31	502.10	102581-06-9	100	250	252	181	208
36	Deltamethrin(溴氰菊酯)	$C_{22}H_{19}Br_2NO_3$	38.02	505.24	52918-63-5	30	181	251	172	174

2 结果与讨论

2.1 提取溶剂体积及提取次数优化

在农残检测中常用的萃取溶剂有乙腈、乙酸乙酯、丙酮、二氯甲烷、甲醇等。因为乙腈的通用性强,对农药的提取效率高,因此大多数农残检测的前处理都采用乙腈作为提取液^[10]。本研究考察了提取溶剂乙腈的体积及提取次数对提取效率的影响,即在GC/MS检测后的空白无籽提汁基质中添加各组分浓度为500 ng/mL的混合标准溶液1 mL,提取溶剂为乙腈,在其他操作条件相同条件下,分别比较提取溶剂10 mL提取2次、提取溶剂20 mL提取1次、提取溶剂20 mL提取2次的提取效果,最终以3次的平均值计算,以回收率作为验证指标,结果显示:即当提取溶剂20 mL提取2次的提取效果要优于提取溶剂20 mL提取1次及提取溶剂10 mL提取2次的提取效果,各组分的峰面积较大。所以实验中均已提取溶剂为乙腈,提取样品2次,每次乙腈提取液体积为20 mL。

2.2 净化条件-固相萃取柱的选择及优化

基质的净化步骤对最终的定量结果有着重要的影响。在分散固相萃取中常用的吸附剂有PSA、Cleannert NH₂、C₁₈和石墨化碳黑(GCB)等^[11,12]。其中PSA与Cleannert NH₂对有机酸、色素、糖及脂肪等极性共提取物有较好的吸附能力;C₁₈对除去非极性杂质有很好的效果;而GCB对色素、甾醇类和非极性干扰物有强烈的吸附作用,但同时也会吸附平面结构的农药^[13]。而固相萃取柱中的净化填料也大致相同,所以本研究选用了常见的水果及蔬菜农残中常用的净化柱,比较净化效果及对目标物定量的影响,即分别选取Carb/NH₂、PC/NH₂、TPC三种固相萃取柱,在空白提

子汁基质中准确添加各组分浓度为500 ng/mL的混合标准溶液1 mL,在相同的处理条件下利用不同固相萃取柱净化后的结果及3种净化效果较好的固相萃取柱的添加回收率结果如下表所示,最终结果以均值计算(n=5,单位为ng/mL)。

结果表明:针对36种农药在提子基质中的添加回收实验利用PC/NH₂固相萃取柱要优于Carb/NH₂固相萃取柱及TPC固相萃取柱,36种组分的回收率均在60%~120%,回收率在80%~120%占目标物的58.3%。所以本实验中均以PC/NH₂固相萃取柱作为水果基质的净化柱。另外,甲苯是过柱后的良好淋洗剂,可提高部分农残目标物的回收率,通过查阅文献,前处理中多数是利用乙腈-甲苯溶液(3+1)作为淋洗剂,但是淋洗液体积过多,里面的甲苯会引入更多杂质到样品中,浓缩上机后会影响到结果的准确性,所以本研究考察固相萃取柱净化后,淋洗液体积对回收率的影响(即其他条件不变,淋洗液分别为6 mL、9 mL、12 mL、15 mL、18 mL、21 mL),结果表明当淋洗液为12 mL时,回收率相对较高,且大多数目标组分的均未超过100%,所以实验中用12 mL乙腈-甲苯溶液(3+1)分三次淋洗。

2.3 基质效应

由于在农残检测时,如果利用溶剂配制标准曲线进行直接定量,基质效应会严重影响结果的准确性,在常规色谱-质谱法的方法确证过程中,一般采用同一来源的空白样品配制系列标准样品和质控(QC)样品,以抵消基质效应对方法的精密度和结果的准确度产生的影响^[14,15]。所以本研究也配制定量工作曲线溶液所使用的空白基质与检测样品一一对应,采用基质匹配标准曲线外标法定量对基质效应进行校正。无籽提汁基质加标(18.0 μg/kg)后的总离子流图如图1所示。

表2 经不同固相萃取柱净化后的添加回收率结果

Table 2 The add recovery results of different solid phase extraction column after purification

序号	名称	Carb/NH ₂	PC/NH ₂	TPC	Carb/NH ₂ 回收率/%	PC/NH ₂ 回收率/%	TPC 回收率/%
1	Ethofenprox (醚菊酯)	426.66	456.77	438.43	85.3	91.4	87.7
2	Alpha-HCH (α -666)	411.24	375.46	389.15	82.2	75.1	77.8
3	Beta-HCH (β -666)	488.23	482.75	467.75	97.6	96.6	93.6
4	Quintozene (五氯硝基苯)	512.06	554.85	503.27	102.4	111.0	100.7
5	Gamma-HCH (γ -666)	439.01	395.12	430.18	87.8	79.0	86.0
6	Chlorothalonil (百菌清)	402.34	413.80	431.66	80.5	82.8	86.3
7	Delta-HCH (δ -666)	476.96	508.53	438.08	95.4	101.7	87.6
8	Aldrin(艾氏剂)	374.31	361.62	341.88	74.9	72.3	68.4
9	Dicofol (三氯杀螨醇)	395.45	366.16	374.64	79.1	73.2	74.9
10	Isodrin (异艾氏剂)	421.34	448.44	412.99	84.3	89.7	82.6
11	Oxychlorthane Solution (氧氯丹)	202.48	340.77	218.36	40.5	68.2	43.7
12	Procymidone (腐霉利)	424.99	453.21	447.99	85.0	90.6	89.6
13	Endosulfan I (α -硫丹)	392.82	368.76	364.19	78.6	73.8	72.8
14	p,p-DDE (p,p-滴滴伊)	392.33	393.76	389.40	78.5	78.8	77.9
15	Dieldrin (狄氏剂)	396.90	404.12	394.87	79.4	80.8	79.0
16	p,p-DDD (p,p-滴滴滴)	382.81	412.59	423.20	76.6	82.5	84.6
17	Chlorfenapyr (虫螨腈)	482.86	504.23	514.23	96.6	100.8	102.8
18	Endrin (异狄氏剂)	324.18	325.11	317.02	64.8	65.0	63.4
19	beta-Endosulfan (β -硫丹)	384.04	394.04	385.78	76.8	78.8	77.2
20	o,p-DDT (o,p-滴滴涕)	390.78	416.27	389.49	78.2	83.3	77.9
21	Endosulfan Sulfate (硫代硫酸酯)	576.41	511.78	519.48	115.3	102.4	103.9
22	p,p-DDT(p,p-滴滴涕)	276.84	466.56	399.77	55.4	93.3	80.0
23	Methoxychlor (甲氧滴滴涕)	405.74	435.25	434.78	81.1	87.0	87.0
24	Tetramethrin (胺菊酯)	315.39	378.29	355.06	63.1	75.7	71.0
25	Bifenthrin (联苯菊酯)	383.37	402.44	389.67	76.7	80.5	77.9
26	Fenpropathrin (甲氰菊酯)	371.64	395.71	382.64	74.3	79.1	76.5
27	Cyhalothrin (氯氟氯菊酯)	244.72	369.30	333.01	48.9	73.9	66.6
28	Acrinathrin (氟丙菊酯)	402.92	337.76	337.09	80.6	67.6	67.4
29	Permethrin (氯菊酯)	248.28	331.41	318.71	49.7	66.3	63.7
30	Cyfluthrin (氟氯菊酯)	284.90	456.05	272.55	57.0	91.2	54.5
31	Cypermethrin (氯菊酯)	278.10	380.08	229.71	55.6	76.0	45.9
32	Flucythrinate(氟氰戊菊酯)	299.95	419.97	278.89	60.0	84.0	55.8
33	Silafluofen(氟硅菊酯)	366.63	380.05	377.45	73.3	76.0	75.5
34	Fenvalerate(氟戊菊酯)	346.28	447.81	330.67	69.3	89.6	66.1
35	Tau-fluvalinate(氟胺菊酯)	404.55	529.47	340.71	80.9	105.9	68.1
36	Deltamethrin(溴氟菊酯)	422.63	470.61	353.37	84.5	94.1	70.7
回收率在 80%~120%的组分数					15	21	13
回收率在 70%~120%的组分数					25	33	25
回收率在 60%~120%的组分数					28	36	32

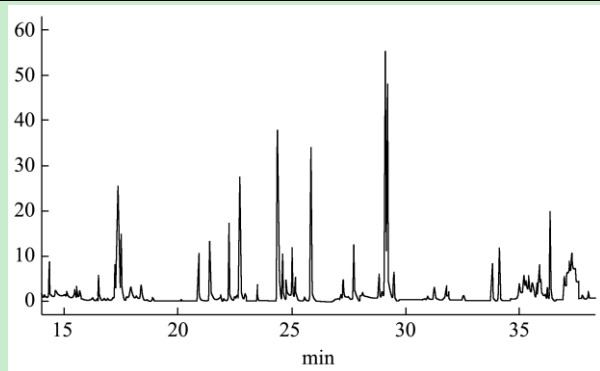


图1 无籽提基质加标(18.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$)样品在单离子检测模式下的总离子流图

Fig.1 Total ion chromatogram in a single ion detection mode of a raisins matrix spiked (18.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$) sample

2.4 线性范围、检出限和定量限

在GC/MS确证的实验条件下,取无籽提样品按样品制备处理后,得到空白提取液,分别配制5个不同浓度70.0 ng/mL、140.0 ng/mL、280.0 ng/mL、350.0 ng/mL、560.0 ng/mL,的混合标准基质溶液,现配现用。采用标准品的保留时间和相对离子峰度比进行定性,基质匹配外标法定量。结果如表3所示,36种目标物线性关系良好($R^2>0.99$)。采用加标回收的方法确定

方法检出限(LOD, $S/N=3$)和定量限(LOQ, $S/N=10$)分别为0.0001~0.0018 mg/kg和0.0002~0.0060 mg/kg,可满足实际检测的需要,符合GB2763-2016食品安全国家标准-食品中农药最大残留限量(MRLs)中规定的相关要求。

2.5 加标回收率

称取适量的空白无籽提汁样品,分别添加3.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、7.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 和18.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 的混合标准溶液,按照上述优化后的方法进行处理,并进行GC-MS分析,平行测定6次,回收率和精密度数据见表4。由下表可见,36种化合物加标回收率范围在60.6%~116.5%之间,RSD($n=6$)在0.8%~9.5%之间,表明本方法重复性良好。另外,本研究还选取苹果、梨这两种基质分别添加浓度18.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$,进行加标实验来验证本方法的适用性,以基质匹配标准曲线外标法定量,实验结果分别为:苹果基质中添加的36种化合物加标回收率范围在65.4%~109.5%之间,RSD($n=6$)在2.1%~7.7%之间;梨基质中添加的36种化合物加标回收率范围在62.6%~119.7%之间,RSD($n=6$)在1.2%~9.3%之间,该方法可以满足准确分析定量的要求,适用性较强,对仁果类,小型攀缘类及其他类水果也可参照执行。

表3 36种化合物线性方程、相关系数、方法检出限和定量限

Table 3 Linear equations, correlation coefficients, limit of detection (LOD) and limit of quantification (LOQ) of the 36 pesticides

序号	名称	线性方程	r^2	检出限(mg/kg)	定量限(mg/kg)
1	Ethofenprox(醚菊酯)	$y=23423.6636x+23409$	0.9920	0.0015	0.0050
2	Alpha-HCH(α -666)	$y=6664.3128x+7512$	0.9916	0.0009	0.0030
3	Beta-HCH (β -666)	$y=7624.4597x+3254$	0.9940	0.0018	0.0060
4	Quintozene(五氯硝基苯)	$y=15643.5545x-8967$	0.9953	0.0003	0.0010
5	Gamma-HCH(γ -666)	$y=7220.4895x+2934$	0.9941	0.0018	0.0060
6	Chlorothalonil(百菌清)	$y=3233.3475x-8643$	0.9934	0.0009	0.0030
7	Delta-HCH(δ -666)	$y=6344.1004x-8956$	0.9992	0.0015	0.0050
8	Aldrin(艾氏剂)	$y=45634.3156x+2478$	0.9914	0.0006	0.0020
9	Dicofol(三氯杀螨醇)	$y=22180.3465x+3224$	0.9916	0.0006	0.0020
10	Isodrin(异艾氏剂)	$y=27444.7554x-2457$	0.9974	0.0018	0.0060
11	Oxychlorthane Solution(氧氯丹)	$y=47878.5655x+64456$	0.9965	0.0006	0.0020
12	Procymidone(腐霉利)	$y=2579.6344x+33559$	0.9944	0.0003	0.0010
13	Endosulfan I(α -硫丹)	$y=24880.5268x+9137$	0.9954	0.0015	0.0050
14	p,p-DDE(p,p-滴滴伊)	$y=21744.3894x-21230$	0.9926	0.0002	0.0005
15	Dieldrin(狄氏剂)	$y=3236.6755x-58296$	0.9903	0.0009	0.0030
16	p,p-DDD(p,p-滴滴滴)	$y=6878.3126x+4210$	0.9931	0.0009	0.0030
17	Chlorfenapyr(虫螨腈)	$y=56899.5575x-6756$	0.9959	0.0006	0.0020
18	Endrin(异狄氏剂)	$y=53733.5986x+131487$	0.9987	0.0012	0.0040
19	beta-Endosulfan(β -硫丹)	$y=1584.3673x-7932$	0.9968	0.0009	0.0030

转下页

接上页

20	o,p-DDT(o,p-滴滴涕)	y=36329.6384x-7612	0.9947	0.0002	0.0005
21	Endosulfan Sulfate(硫代硫酸酯)	y=8024.9279x+16093	0.9992	0.0012	0.0040
22	p,p-DDT(p,p-滴滴涕)	y=16665.3179x+94589	0.9931	0.0012	0.0040
23	Methoxychlor(甲氧滴滴涕)	y=75543.5457x-35468	0.9936	0.0009	0.0030
24	Tetramethrin(胺菊酯)	y=17555 x+43225	0.9933	0.0001	0.0002
25	Bifenthrin(联苯菊酯)	y=85970.6932x-22232	0.9990	0.0001	0.0003
26	Fenpropathrin(甲氰菊酯)	y=19316.1842x-98035	0.9930	0.0009	0.0030
27	Cyhalothrin(氯氟氰菊酯)	y=8044.4344x-2803	0.9940	0.0012	0.0040
28	Acrinathrin(氟丙菊酯)	y=3234.8665x+43225	0.9992	0.0012	0.0040
29	Permethrin(氯菊酯)	y=34600x-91231	0.9909	0.0009	0.0030
30	Cyfluthrin(氟氯氰菊酯)	y=12970.9127x+30013	0.9936	0.0012	0.0040
31	Cypermethrin(氯氰菊酯)	y=19430.9942x-21345	0.9952	0.0015	0.0050
32	Flucythrinate(氟氰戊菊酯)	y=31278.7342x+1290	0.9954	0.0009	0.0030
33	Silafluofen(氟硅菊酯)	y=75433.4337x-4678	0.9926	0.0015	0.0050
34	Fenvalerate(氟戊菊酯)	y=31970.3567x-72417	0.9931	0.0012	0.0040
35	Tau-fluvalinate(氟胺氰菊酯)	y=9813.4158x-56433	0.9940	0.0012	0.0040
36	Deltamethrin(溴氰菊酯)	y=12300.6543x-15543	0.9996	0.0012	0.0040

注: Y: peak area of target compound; X: mass concentration of target compound; $\mu\text{g/L}$.

表4 36种化合物平均回收率与精密度

Table 4 Average recoveries, relative standard deviation(RSD) of 36 kinds of compounds (n=6)

序号	名称	加标浓度/ $(\mu\text{g}/\text{kg})$					
		3.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$		7.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$		18.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$	
		回收率/%	RSD/%	回收率/%	RSD/%	回收率/%	RSD/%
1	Ethofenprox(醚菊酯)	78.9	1.9	98.3	3.2	80.4	1.7
2	Alpha-HCH(α -666)	72.3	2.7	68.0	5.3	71.6	6.0
3	Beta-HCH(β -666)	81.8	0.8	92.2	2.6	88.4	1.5
4	Quintozene(五氯硝基苯)	96.2	1.0	100.6	3.2	116.5	2.1
5	Gamma-HCH(γ -666)	96.4	1.1	88.3	3.0	78.4	1.8
6	Chlorothalonil(百菌清)	93.6	1.3	95.1	3.5	75.5	2.1
7	Delta-HCH(δ -666)	75.0	1.7	68.9	3.8	80.5	3.1
8	Aldrin(艾氏剂)	77.2	1.8	82.4	3.6	79.5	2.9
9	Dicofol(三氯杀螨醇)	80.6	1.7	100.1	3.9	90.2	2.3
10	Isodrin(异艾氏剂)	87.8	2.1	90.7	4.3	98.8	2.4
11	Oxychlorane Solution(氧氯丹)	68.6	2.5	92.0	5.1	94.0	3.2
12	Procymidone(腐霉利)	100.9	2.3	88.4	4.9	109.3	3.0
13	Endosulfan I(α -硫丹)	98.7	2.8	105.3	4.9	91.5	4.3
14	p,p-DDE(p,p-滴滴伊)	84.8	3.6	92.8	4.5	87.3	4.9
15	Dieldrin(狄氏剂)	86.1	3.6	91.5	5.6	86.0	5.7
16	p,p-DDD(p,p-滴滴滴)	83.0	4.1	91.6	4.7	84.2	5.6
17	Chlorfenapyr(虫螨腈)	88.2	3.1	111.0	5.7	104.5	4.2
18	Endrin(异狄氏剂)	73.4	2.4	69.6	5.3	69.8	2.9
19	beta-Endosulfan(β -硫丹)	81.9	4.3	89.7	5.1	81.9	4.2
20	o,p-DDT(o,p-滴滴涕)	62.1	4.7	85.5	7.6	93.2	8.0

转下页

接上页

21	Endosulfan Sulfate (硫代硫酸酯)	104.9	1.9	92.8	4.7	105.3	3.2
22	p,p-DDT(p,p-滴滴涕)	95.6	1.8	82.9	3.9	60.6	3.4
23	Methoxychlor(甲氧滴滴涕)	69.2	1.3	89.4	3.4	86.2	1.9
24	Tetramethrin(胺菊酯)	62.6	1.5	78.5	3.8	87.1	2.7
25	Bifenthrin(联苯菊酯)	74.4	2.1	91.5	3.4	93.2	2.7
26	Fenpropathrin(甲氰菊酯)	104.3	2.3	86.6	4.7	92.6	3.2
27	Cyhalothrin(氯氟氰菊酯)	92.9	1.4	85.2	4.5	84.1	2.2
28	Acrinathrin(氟丙菊酯)	80.6	2.3	63.4	3.8	81.9	2.2
29	Permethrin(氯菊酯)	64.7	3.1	73.4	5.7	71.1	4.4
30	Cyfluthrin(氟氯氰菊酯)	92.1	2.2	80.1	5.0	76.8	3.0
31	Cypermethrin(氯氰菊酯)	71.0	2.1	68.8	4.6	77.9	1.3
32	Flucythrinate(氟氰戊菊酯)	87.4	3.6	77.2	6.1	80.0	3.6
33	Silafluofen(氟硅菊酯)	105.1	4.9	85.7	6.8	88.4	6.0
34	Fenvalerate(氰戊菊酯)	91.5	6.9	86.7	7.1	86.3	8.8
35	Tau-fluvalinate(氟胺氰菊酯)	89.4	5.3	82.3	8.2	73.8	9.5
36	Deltamethrin(溴氰菊酯)	101.4	1.7	79.6	4.4	76.4	4.7

2.6 实际样品分析

采用本研究建立的方法对 2017 年贵州省食品风险监测委托送检的 50 份水果样品进行监测,在 1 份苹果中检出腐霉利农药,其含量为 4.05 $\mu\text{g}/\text{kg}$,未超过食品风险监测评估中的限值要求。

另外为验证本方法的准确性,此份苹果样品依据《GB 23200.8-2016 食品安全国家标准 水果和蔬菜中 500 种农药及相关化学品残留量的测定气相色谱-质谱法》进行测定,最终的腐霉利结果为 4.22 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ($n=5$, RSD(%)为 0.83),表明本方法的准确度与国标相一致。

3 结论

本研究针对水果基质通过不同种固相萃取柱净化后的加标回收考察实验,筛选出对水果基质净化效果较好的固相萃取柱,通过优化提取液体积、提取次数及净化柱淋洗液体积等实验参数,建立了固相萃取法结合气相色谱-质谱法同时测定水果中 36 种农药残留量的方法,在国家标准《GB 23200.8-2016 食品安全国家标准 水果和蔬菜中 500 种农药及相关化学品残留量的测定 气相色谱-质谱法》基础上,本方法将双柱依次净化优化成单柱净化,并减少了溶剂置换次数,缩短了检测时间,提高了检测效率及灵敏度,使得该方法前处理步骤简便,特异性强,回收率稳定;适合仁果类,小型攀缘类等水果基质中多组分农药残留的检测要求。

参考文献

- [1] 廖和菁,胡礼渊,刘瑞芳,等.气相色谱法测定坚果中 8 种拟除虫菊酯农药残留[J].分析测试学报,2017,36(5):669-673
LIAO He-jing, HU Li-yuan, LIU Rui-fang, et al. Determination of 8 pyrethroid pesticide residues in nuts by gas chromatography [J]. Journal of Instrumental Analysis, 2017, 36(5): 669-673
- [2] 段丽村,周建于,李佳欣,等.固相萃取-气相色谱法检测血清中有机氯农药残留的研究[J].分析测试学报,2016,35(12):1606-1610
DUAN Li-cun, ZHOU Jian-yu, LI Jia-xin, et al. Determination of organochlorine pesticide residues in serum by solid phase extraction and gas chromatography [J]. Journal of Instrumental Analysis, 2016, 35(12): 1606-1610
- [3] 李海飞,聂继云,徐国锋,等.QuEChERS样品前处理方法联合在线GPC/GC-MS测定水果中15种三唑类农药残留量方法评估[J].分析测试学报,2015,34(12):1331-1338
LI Hai-fei, NIE Ji-yun, XU Guo-feng, et al. Evaluation of QuEChERS method for the analysis of 15 triazole pesticides residues in fruits by online gel permeation chromatography gas chromatography-Mass Spectrometry [J]. Journal of Instrumental Analysis, 2015, 34(12): 1331-1338
- [4] 李春苗,胡雪艳,范春林,等.GC-Q-TOF/MS快速筛查测定半夏中322种农药及化学污染物残留[J].分析测试学报,2017,36(04):431-448
LI Chun-miao, HU Xue-yan, FAN Chun-lin, et al. Rapid screening and quantitative analysis of 322 pesticide residues

- in pinellia by gas chromatography - quadruple time of flight mass spectrometry [J]. *Journal of Instrumental Analysis*, 2017, 36(04): 431-448
- [5] 甘静妮,程雪梅,莫晓君,等.分散固相萃取/气相色谱-三重四极杆串联质谱测定蔬菜和水果中67种农药残留[J].*分析测试学报*,2016,35(12):1528-1534
GAN Jing-ni, CHENG Xue-mei, MO Xiao-jun, et al. Determination of 67 pesticide residues in vegetables and fruits by gas chromatography triple quadrupole mass spectrometry with dispersive solid phase extraction [J]. *Journal of Instrumental Analysis*, 2016, 35(12): 1528-1534
- [6] 张弛,宋莹,潘家荣,等.气相色谱-质谱大体积进样法测定果汁中90种农药残留[J].*分析化学*,2015,43(8):1154-1161
ZHANG Chi, SONG Ying, PAN Jia-Rong, et al. Determination of 90 pesticide residues in fruit juices using QuEChERS cleanup and programmable temperature vaporizer-based large volume injection by gas chromatography-mass spectrometry [J]. *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, 2015, 43(8): 1154-1161
- [7] 崔春艳,张红医,吴兴强,等.分散固相萃取-液相色谱-串联质谱法测定谷物、蔬菜、水果中27种新型杀菌剂[J].*色谱*, 2017,35(5):487-494
CUI Chun-yan, ZHANG Hong-yi, WU Xing-qiang, et al. Determination of 27 new fungicides in cereals, vegetables and fruits by dispersive solid phase extraction and liquid chromatography – tandem mass spectrometry [J]. *Chinese Journal of chromatography*, 2017, 35(5): 487-494
- [8] 余璐,宋伟,吕亚宁,等.超高效液相色谱-四极杆-飞行时间质谱法快速筛查茶叶中的204种农药残留[J].*色谱*,2015,33(6):597-612
YU Lu, SONG Wei, LU Ya-ning, et al. Rapid determination of 204 pesticide residues in tea by ultra performance liquid chromatography coupled with quadrupole – time of flight mass spectrometry [J]. *Chinese Journal of chromatography*, 2015, 33(6): 597-612
- [9] GB/T19648-2006,水果和蔬菜中500种农药及相关化学品残留的测定气相色谱-质谱法[S]
GB/T 19648-2006, Method for determination of 500 pesticides and related chemicals residues in fruits and vegetables-GC-MS method[S]
- [10] 施家威,李继革,王玉飞,等.分散固相萃取-气相色谱-三重四极杆质谱分析蔬菜中112种农药残留[J].*色谱*,2012,30(06):602-612
SHI Jia-wei, LI Ji-ge, WANG Yu-fei, et al. Analysis of 112 pesticide residues in vegetables using dispersive- solid phase extraction and gas chromatography – triple quadrupole mass spectrometry [J]. *Chinese Journal of Chromatography*, 2012, 30(06): 602-612
- [11] Sung WooLee , Jeong-HeuiChoi, Soon-KilCho , et al. Development of a new QuEChERS method based on dry ice for the determination of 168 pesticides in paprika using tandem mass spectrometry [J]. *Journal of Chromatography A*, 2011, 1218(28): 4366-4377
- [12] Urairat, Koesukwiwat,Steven J, et al, low-pressure gas chromatography triple quadrupole tandem mass spectrometry for analysis of 150 pesticide residues in fruits and vegetables.[J].*Journal of Chromatography. A*, 2011, 1218(39): 7039-50
- [13] 秦富,邓全道,李湧,等.QuEChERS-高效液相色谱-串联质谱法快速测定罗汉果中 55 种杀菌剂[J].*色谱*,2017,35(11): 1129-1136
QIN Fu, DENG Quan-dao, LI Yong, et al. Rapid determination of 55 fungicides in siraitia grosvenoriis by QuEChERS and high performance liquid chromatography – tandem mass spectrometry [J]. *Chinese Journal of Chromatography*, 2017, 35(11): 1129-1136
- [14] Anastasios E, Helen B, Spyros A, et al. Determination of multi-class pesticides in win. *Journal of Chromatography A*, 2009, 1216: 5856-5867
- [15] Hongmei Liu, Weijun king, Bao Gong. Rapid analysis of multi-pesticides in Morinda officinalisby GC–ECD with accelerated solvent extraction assisted matrix solid phase dispersion and positive confirmation by GC–MS [J]. *Journal of Chromatography B*, 2015, 974: 65-74