

分散固相萃取-气相色谱-质谱联用法快速检测蔬菜中18种农药残留

曹殿洁¹, 黄信龙²

(1.安徽新华学院药学院, 安徽 合肥 230088;

2.合肥周谷堆农产品批发市场农产品质量安全检测中心, 安徽 合肥 230009)

摘 要: 建立测定蔬菜中常用18种农药的简便、快速的气相色谱-质谱联用多残留检测方法。以乙腈提取样品, 伯仲胺(PSA)分散净化, 使用气相色谱-质谱仪以选择离子监测模式进行分析测定。在设定色谱条件下, 18种农药在0.036~0.36mg/kg范围内线性良好, 添加0.05、0.1mg/kg农药混合溶液的平均回收率在75%~117%之间, 检测限在1.0~14.8 μ g/kg范围内。本方法操作方便、重现性良好, 为检测蔬菜中农药多残留提供可靠的分析方法。

关键词: 分散固相萃取; 气相色谱-质谱法; 蔬菜; 农药残留

Rapid Determination of 18 Pesticides Residues in Vegetables by QuEChERS Cleanup and GC-MS

CAO Dian-jie¹, HUANG Xin-long²

(1. College of Pharmacy, Anhui Xinhua University, Hefei 230088, China; 2. Quality and Safety of Agricultural Products Testing Center, Hefei Zhongdui Agricultural Products Whol-Esale Market, Hefei 230009, China)

Abstract: A simple and rapid method was developed to determine 18 pesticide residues in vegetables by GC-MS. Pesticides were extracted with acetonitrile and cleaned up by dispersive solid phase extraction using primary secondary amine and analyzed by GC-MS under selective ion monitoring mode. Under the optimal chromatographic conditions, a good linear relationship was obtained in the concentration range of 0.036 to 0.36mg/kg. Average recoveries of the pesticides in blank matrix spiked at 0.05 mg/kg and 0.1 mg/kg ranged from 75% to 117%. The limits of detection for 18 pesticides were in the range of 1.0 to 14.8 μ g/kg. This method is simple and reproducible and can offer a reliable analytical approach for determining pesticide multi-residues in vegetables.

Key words: dispersive solid-phase extraction; gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS); vegetables; pesticide multi-residue

中图分类号: O657

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630(2013)10-0219-04

doi:10.7506/spkx1002-6630-201310048

农药残留超标不仅影响国民身体健康, 而且是我国农产品出口的重要障碍。各国政府及组织均严格制定了各类农产品中的农药最大残留限量标准(MRLs)。农药多残留检测需要高灵敏的分析技术, 当前常用的如气相色谱技术、气相色谱-质谱联用(gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS)技术、液相色谱-串联质谱(liquid chromatography-tandem mass spectrometry, LC-MS-MS)技术等, 而样品前处理技术更是农药残留分析工作的研究重点。目前用于农药多残留检测的前处理方法普遍存在有机溶剂消耗量大、操作时间长、过程繁琐、净化效果不理想等问题。

Anastassiades等^[1]在2003年首次报道了“QuEChERS方法”(Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe), 在基质固相分散的基础上建立了分散固相萃取法。该方法直接在样品的提取液中加入固相吸附剂以去除基质中的杂质, 同时完成对样品待测组分的提取和净化, 能够快速、简便、高效地对农药多残留进行分析, 目前已在农产品农药残留检测中得到一定的应用^[2-16]。

利用分散固相萃取技术, 对新鲜蔬菜中18种常见农药进行前处理, 以乙腈为提取溶剂、伯仲胺为分散净化剂, 采用气相色谱-质谱-选择离子监测模式(selected ion monitoring, SIM), 通过优化质谱条件, 对敌敌畏、三唑

收稿日期: 2012-08-05

基金项目: 安徽省教育厅优秀青年人才基金项目(2009SQZRZ197)

作者简介: 曹殿洁(1981—), 女, 讲师, 硕士, 主要从事农药残留分析研究。E-mail: caojiediandian@163.com

酮、百菌清、甲氧菊酯等农药多残留进行定性、定量分析,方法针对性强,简便、快速、准确,为农产品中农药多残留检测提供了实验依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

新鲜蔬菜(白菜、黄瓜、萝卜等) 合肥周谷堆农产品批发市场。

敌敌畏、乐果、久效磷、甲拌磷、咪酰胺、克百威、三唑酮、三唑磷、甲基对硫磷、对硫磷、毒死蜱、氯氰菊酯、氰戊菊酯、甲氧菊酯、高效氯氰菊酯、百菌清、丁硫克百威、噁唑菌酮农药标准物质(纯度 $\geq 97\%$,用丙酮溶解,配制质量浓度 $100\mu\text{g/mL}$ 的标准溶液) 农业部环境保护科研监测所;乙腈(色谱纯) 美国天地试剂公司;PSA(40~60目) 美国Varian公司;无水硫酸镁(分析纯,用前在 500°C 马弗炉内烘干5h, 200°C 时取出装瓶,贮于干燥器中,冷却后备用);氯化钠(分析纯,经 120°C 烘干处理8h)。

1.2 仪器与设备

6890/5973GC/MS气相色谱-质谱联用仪(带有7683自动进样器、分流/不分流进样口及EPC(电子自动控制)模式) 美国Agilent公司;XW280A型旋涡混合器 上海医大仪器厂;Anke TDL240B离心机 上海安亭科学仪器厂。

1.3 方法

1.3.1 色谱条件

色谱柱: HP-5MS色谱柱($30\text{m}\times 0.32\text{mm}$, $0.25\mu\text{m}$)熔融石英毛细管柱。J&W DB-5石英毛细柱($30\text{m}\times 0.25\text{mm}$, $0.25\mu\text{m}$);升温程序: 初始温度 50°C ,保持1min,以 $20^\circ\text{C}/\text{min}$ 升至 200°C ,保持1min,再以 $10^\circ\text{C}/\text{min}$ 升至 290°C 保持5min;载气He(纯度99.99%),流速 $1.0\text{mL}/\text{min}$,进样口温度 230°C ;进样量 $1.0\mu\text{L}$;不分流进样。

1.3.2 质谱条件

电子电离源;电子能量 70eV ;离子源温度 230°C ;质量扫描范围 m/z 40~500,选择离子(SIM)监测方式。

1.3.3 样品前处理

将 10g 经粉碎均质后的样品置于 40mL 具塞离心管,加入 10mL 乙腈,剧烈振荡2min,添加 4g 无水硫酸镁和 1g NaCl振荡1min,以 $4000\text{r}/\text{min}$ 离心8min,取上层乙腈液 2mL 于 3mL 离心管中,加入 50mg PSA和 100mg 无水硫酸镁,旋涡振荡1min,以 $5000\text{r}/\text{min}$ 离心5min,取上清液 1mL ,氮气吹干,用正己烷定容至 1mL ,过 $0.45\mu\text{m}$ 滤膜后,进气相色谱仪测定。

2 结果与分析

2.1 质谱分析条件的优化

用弱极性HP-5MS毛细管柱,采用全扫描方式在 m/z 40~500范围内分析乐果等18种农药的混合标准溶液,然后根据各农药组分的相对保留时间和质谱图,确定其在选择离子监测(SIM)测定方式中的结束采集时间和监测离子,见表1。采用SIM测定方式得到总离子流色谱图(TIC),见图1。

表1 各农药组分的采集时间、特征离子
Table 1 Retention time and characteristic ions of 18 pesticides

出峰顺序	农药名称	相对分子质量	出峰时间/min	开始采集时间/min	结束采集时间/min	定性离子(m/z)	定量离子(m/z)
1	敌敌畏	220.92	5.16	5.10	5.40	109,185,79	109
2	咪酰胺	376.7	5.94	5.56	6.40	196,97,132	196
3	甲拌磷	260.40	8.52	8.40	8.70	75,121,260	260
4	久效磷	223.06	8.56	8.45	8.90	127,67,192	67
5	乐果	229.16	8.99	8.90	9.20	87,125,93	87
6	克百威	221.14	9.01	8.95	9.15	164,149,221	164
7	百菌清	265.90	9.82	9.70	10.10	264,109,124	264
8	甲基对硫磷	263.13	10.40	10.30	10.70	109,263,125	109
9	毒死蜱	350.60	11.19	11.00	11.40	314,199,97	314
10	对硫磷	291.30	11.25	11.10	11.50	109,97,291	291
11	三唑酮	293.75	11.29	11.20	11.40	57,208,85	57
12	三唑磷	313.20	14.05	13.90	14.30	161,77,172	161
13	丁硫克百威	380.50	15.06	14.90	15.20	160,118,323	161
14	甲氧菊酯	349.40	15.33	15.21	15.60	97,181,265	265
15	高效氯氰菊酯	416.15	17.73	17.50	18.20	181,163,91	181
16	氰戊菊酯	419.90	18.63	18.50	19.00	125,167,181	167
17	溴氰菊酯	505.06	19.21	19.10	19.60	181,253,77	253
18	噁唑菌酮	374.40	20.03	19.8	20.3	330,196,224	330

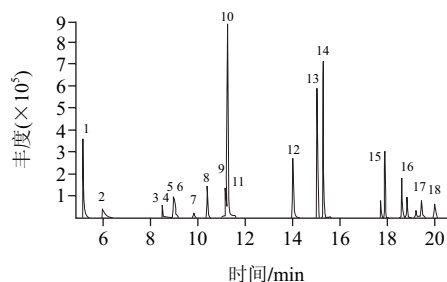


图1 18种农药的混合标准溶液总离子流色谱图

Fig.1 Total ion chromatogram of mixture of 18 pesticide standards

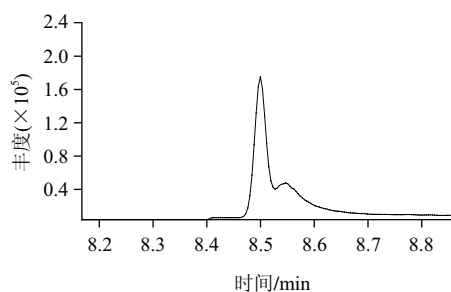


图2 甲拌磷和久效磷的离子色谱图

Fig.2 Ion chromatograms of phorate and monocrotophos

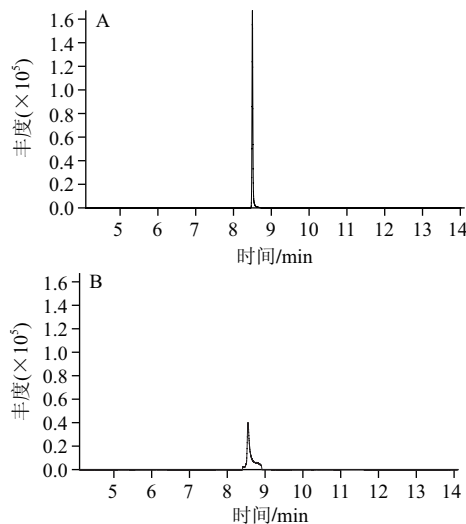


图3 甲拌磷(A)和久效磷(B)的提取离子色谱图

Fig.3 Extracted ion chromatograms of phorate (A) and monocrotophos (B)

由图1可以看到,在本实验条件下,多数农药得到了很好的分离,没有相互干扰,符合农药多残留检测的方法要求。其中久效磷和甲拌磷,乐果和克百威,对硫磷、毒死蜱和三唑磷三组7种农药由于出峰时间接近,出现峰形重叠的现象,如图2所示甲拌磷和久效磷的峰形重叠。为实现对这三组农药的准确定量,根据农药各组分在全扫描模式下的离子碎片丰度,选择一定的特征离子,在同一时间窗口,不同质量通道,绘制提取离子色谱图,如图3所示,选择67和260分别作为久效磷和甲拌磷的特征离子得到的提取离子色谱图。同理分别选择87和164作为乐果和克百威的特征离子;291、314和57作为对硫磷、毒死蜱和三唑磷的特征离子,获得提取离子色谱图,确定乐果和克百威,对硫磷、毒死蜱和三唑磷的含量。

2.2 样品前处理方法的选择

由于蔬菜样品中的水分含量较大,无水硫酸镁能较

充分地吸除基质中的水分,有利于减轻后续的旋转蒸发和上机进样前的除水压力;用乙腈提取可以避免基质中蜡质、脂肪和一些亲脂性色素的干扰,大大减少了提取液中的杂质;PSA固相材料同时含有伯胺和仲胺基团,具有弱的阴离子交换能力,对食品中脂肪酸、其他有机酸、糖及色素的保留能力好^[11],其净化效果优于中性氧化铝、活性碳等吸附剂。将净化剂PSA直接加入到提取液中,与传统的固相萃取法相比可节约大量柱活化和淋洗所需的溶剂,并可节省装柱时间。与C₁₈、石墨化炭黑等多种吸附剂相比,这种分散固相萃取净化技术的运用,可以简化操作,有效地缩短分析时间,减少有机溶剂的使用量。

2.3 标准曲线、线性范围和检出限

表2 线性范围、线性回归方程、相关系数和检测限

Table 2 Liner range, regression equation, correlation coefficients and limits of detection

农药名称	线性范围/(mg/kg)	回归方程	相关系数	检测限/(μg/kg)		
				黄瓜	萝卜	白菜
1 咪酰胺	0.036~0.36	$Y=1.39487 \times 10^{-5}X+0.366779$	0.985	8.1	5.6	2.3
2 久效磷	0.036~0.36	$Y=3.82286 \times 10^{-4}+0.46958$	0.945	1.9	4.0	1.4
3 乐果	0.036~0.36	$Y=2.00099 \times 10^{-5}X+0.320857$	0.991	8.6	6.5	2.7
4 百菌清	0.036~0.36	$Y=5.22543 \times 10^{-5}X-0.1818$	0.999	10.2	8.8	6.1
5 对硫磷	0.036~0.36	$Y=4.71424 \times 10^{-5}X+0.362822$	0.989	4.5	6.0	6.8
6 恶唑菌酮	0.036~0.36	$Y=1.33458 \times 10^{-5}X+0.594803$	0.958	3.7	5.3	4.3
7 毒死蜱	0.036~0.36	$Y=6.37496 \times 10^{-5}X+0.11027$	0.994	2.6	7.0	5.9
8 克百威	0.036~0.36	$Y=5.07543 \times 10^{-5}X-0.04365$	0.999	7.6	6.1	4.6
9 甲基对硫磷	0.036~0.36	$Y=1.47777 \times 10^{-5}X+0.320471$	0.947	7.7	14.8	13.4
10 三唑磷	0.036~0.36	$Y=6.423 \times 10^{-5}X+0.243542$	0.988	3.6	6.9	5.8
11 溴氰菊酯	0.036~0.36	$Y=2.5025 \times 10^{-5}X-0.04223$	0.999	9.0	5.8	3.7
12 氰戊菊酯	0.036~0.36	$Y=9.81159 \times 10^{-6}X+0.105339$	0.994	11.6	7.5	4.7
13 高效氯氟菊酯	0.036~0.36	$Y=2.67181 \times 10^{-5}X+0.122028$	0.985	1.5	4.9	14.4
14 甲拌磷	0.036~0.36	$Y=5.5481 \times 10^{-6}X+0.091862$	0.997	6.7	8.1	6.9
15 敌敌畏	0.036~0.36	$Y=7.2699 \times 10^{-6}X+0.181257$	0.987	5.2	9.4	8.9
16 三唑酮	0.036~0.36	$Y=2.82361 \times 10^{-7}X+0.186941$	0.985	6.8	7.9	9.4
17 甲氰菊酯	0.036~0.36	$Y=3.38741 \times 10^{-6}X+0.061642$	0.996	9.4	5.8	8.4
18 丁硫克百威	0.036~0.36	$Y=5.28476 \times 10^{-6}X+0.06978$	0.989	8.9	5.2	7.5

表3 方法的回收率、精密度实验
Table 3 Precision and recovery of the

农药名称	添加量0.05mg/kg						添加量0.1mg/kg					
	黄瓜		白菜		萝卜		黄瓜		白菜		萝卜	
	回收率/%	RSD/%	回收率/%	RSD/%	回收率/%	RSD/%	回收率/%	RSD/%	回收率/%	RSD/%	回收率/%	RSD/%
1 咪酰胺	91	2.1	87	3.6	81	7.3	94	5.2	90	5.9	80	5.2
2 久效磷	95	2.9	95	3.5	88	7.1	95	3.5	99	7.5	95	3.9
3 乐果	89	1.6	90	5.3	79	5.7	93	1.0	93	1.5	74	6.0
4 百菌清	76	2.5	99	4.7	92	6.4	86	10.5	99	4.5	96	4.4
5 对硫磷	83	5.4	93	3.8	109	8.3	83	7.9	94	7.8	101	4.9
6 恶唑菌酮	104	3.9	88	5.7	76	4.7	102	9.3	95	9.1	80	7.9
7 毒死蜱	90	3.1	80	8.2	89	1.6	99	4.8	93	7.8	84	11.9
8 克百威	88	3.3	86	3.7	95	8.9	90	4.7	90	9.7	90	7.1
9 甲基对硫磷	109	6.0	79	5.8	78	3.7	113	4.0	88	5.0	83	7.8
10 三唑磷	95	5.1	117	5.1	80	3.6	100	6.2	115	1.2	88	8.1
11 溴氰菊酯	98	1.9	80	1.9	90	6.8	100	12.5	89	2.5	78	6.6
12 氰戊菊酯	87	1.0	81	1.0	93	3.7	93	3.0	96	8.7	85	8.1
13 高效氯氟菊酯	90	7.6	97	7.6	87	5.7	99	3.5	96	6.5	87	8.6
14 甲拌磷	107	5.1	90	5.1	111	1.7	113	7.9	89	10.6	96	3.6
15 敌敌畏	99	5.9	94	5.9	75	4.6	108	9.3	98	9.2	87	4.2
16 三唑酮	85	4.0	89	4.0	90	4.8	89	2.8	81	13.8	93	10.9
17 甲氰菊酯	79	1.7	90	1.7	87	7.3	85	10.7	95	12.3	99	11.1
18 丁硫克百威	97	4.7	110	4.7	103	8.4	97	1.9	104	11.0	100	4.8

将混合农药标准储备液配制成相应质量浓度的系列标准工作液,以峰面积 y 对质量浓度 x /(mg/kg)做标准曲线。18种农药线性关系列于表2。结果表明,在相应的质量浓度范围内各农药的响应值与其质量浓度均呈良好的线性关系,18种农药在0.036~0.36mg/kg范围内线性良好,18种化合物的相关系数均高于0.940,检测限为1.0~14.8 μ g/kg。

2.4 回收率和精密度

从市场上购买的新鲜果蔬,根据国家无公害蔬菜的农药最高残留标准^[17-18]分别添加0.05、0.1mg/kg农药混合溶液,进行加样回收实验。每种样品按分析步骤操作,重复测定3次。同时做空白对照,采用空白提取液配制的基质标样进行定量,结果如表3所示。添加0.05、0.1mg/kg农药混合溶液的平均回收率在75%~117%之间。

3 结 论

针对新鲜蔬菜中18种常见农药建立QuEChERS-GC-MS-SIM方法进行多残留分析检测。利用乙腈良好的提取能力,PSA特殊的分散净化效果,达到了操作简单、处理快速、节省溶剂的目的。在气相色谱-质谱-选择离子监测模式下,方法检测限为1.0~14.8 μ g/kg,添加0.05、0.1mg/kg两个水平下的平均回收率为75%~117%,RSD不大于13.8%。与国标方法相比,采用分散固相萃取进行样品农药残留的前处理方法耗时短,选择性好,基质干扰小,而GC-MS-SIM方法准确度和精密度高,满足了农药残留检测的要求。仪器应做好定时更换玻璃棉,清洗进样口衬管、离子源等维护,确保整个方法结果准确,回收率良好。

参考文献:

- [1] ANASTASSIADES M, LEHOTAY S J, STAJNBAHER D, et al. Fast and easy multi-residue method employing acetonitrile extraction /partitioning and "dispersive solid-phase extraction" for the determination of pesticide residues in produce[J]. J AOAC Int, 2003, 86(2): 412-431.
- [2] STEVEN J L, ANDRE D K, MAURICE H, et al. Validation of a fast and easy method for the determination of residues from 229 pesticides in fruits and vegetables using gas and liquid chromatography and mass spectrometric detection[J]. J AOAC Int, 2005, 88(2): 595-614.
- [3] AYSAL P, AMBRUS A, LEHOTAY S J, et al. Validation of an efficient method for the determination of pesticide residues in fruits and vegetables using ethyl acetate for extraction[J]. Journal of Environmental Science and Health Part B, 2007, 42(3): 481-490.
- [4] STEVEN J L, KATEHINA M, ALAN R L, et al. Use of buffering and other means to improve results of problematic pesticides in a fast and easy method for residue analysis of fruits and vegetables[J]. J AOAC Int, 2005, 88(2): 615-629.
- [5] CUNHA S C, LEHOTAY S J, MASTOVSKA K, et al. Evaluation of the QuEChERS sample preparation approach for the analysis of pesticide residues in olives[J]. J Sep Sc, 2007, 30(4): 620-632.
- [6] 沈伟健, 余可垚, 桂茜雯, 等. 分散固相萃取-气相色谱-串联质谱法测定蔬菜中107种农药的残留量[J]. 色谱, 2009, 27(4): 391-400.
- [7] 隋凯, 李军, 卫锋, 等. 固相萃取-高效液相色谱法同时检测大米中12种磺酰脲类除草剂的残留[J]. 色谱, 2006, 24(2): 152-156.
- [8] 陈健航, 叶瑜霏, 程雪梅, 等. 分散固相萃取-气相色谱-质谱联用法检测葱、韭菜和姜中多种农药残留[J]. 色谱学报, 2011, 36(6): 341-349.
- [9] 沈丹玉, 汤富彬, 袁新跃, 等. 基质固相分散-气相色谱检测菊花中有有机磷农药残留[J]. 食品科学, 2012, 33(18): 216-219.
- [10] 李润岩, 原现瑞, 李挥, 等. 顶空固相微萃取-气质联用快速测定草莓中5种有机磷农药[J]. 食品科学, 2009, 30(14): 191-193.
- [11] 范玉兰, 王星梅, 薛珏, 等. 气相色谱-负化学离子化-质谱法同时分析果蔬中9种有机磷农药残留[J]. 食品科学, 2012, 33(18): 198-201.
- [12] 刘敏, 端裕树, 宋苑苑, 等. 分散固相萃取-液相色谱-质谱检测蔬菜水果中氨基甲酸酯和有机磷农药[J]. 分析化学, 2006, 34(7): 941-945.
- [13] 刘荔彬, 端裕树, 秦亚萍, 等. 农产品中多种残留农药的气相色谱质谱快速检测[J]. 分析化学, 2006, 34(6): 783-786.
- [14] 李春风, 沈伟健, 蒋原, 等. 分散固相萃取气相色谱-负化学离子源质谱法测定大豆和玉米中20种农药的残留量[J]. 色谱, 2009, 27(2): 176-180.
- [15] 曾正宏, 陈勇, 杨瑞章, 等. 分散固相萃取-气相色谱-质谱法测定水果和蔬菜中扑草净和禾草丹残留量[J]. 理化检验: 化学分册, 2010, 46(9): 1046-1048.
- [16] 郝开拓, 孔祥虹, 杜宝中, 等. 分散固相萃取-气相色谱-质谱法分析蕨菜、黑米中53种农药残留量[J]. 分析实验室, 2011, 30(6): 69-74.
- [17] 中华人民共和国卫生部. GB2763—2005 食品中农药最大残留限量[S]. 北京: 中国标准出版社, 2005.
- [18] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局. GB 18406.1—2001 农产品安全质量无公害蔬菜安全[S]. 北京: 中国标准出版社, 2001.