

基于 LC-MS/MS 法测定蔬菜中多种农药残留的方法研究

李绍群, 严国荣, 胡康, 蔡莉, 陆煜

兴化市产品质量综合检验检测中心, 江苏泰州 225700

【摘要】目的: 采取超高效液相色谱串联质谱法 (LC-MS/MS) 对蔬菜中 6 种农药残留展开检测。**方法:** 粉碎的蔬菜样品采取乙腈超声提取并通过 QuEChERS 法净化后, 上机检测。**结果:** 相应浓度范围内, 6 种农药线性良好, 相关系数 0.9991 ~ 1.0000, 3 个水平的加标回收显示方法具备 0.7% ~ 9.6% 的精密度和 74.1% ~ 100.3% 的平均回收率。**结论:** 经试验证明, 该方法操作简便, 回收率与灵敏度高, 具备良好的分离效果, 检出下限并未超出国家安全标准限量, 可用于检测蔬菜样品中多种农药残留。

【关键词】 LC-MS/MS; 蔬菜; 农药残留; QuEChERS; 方法研究

【中图分类号】 S481.8 **【文献标识码】** A **【DOI】** 10.12325/j.issn.1672-5336.2022.04.010

超高效液相色谱串联质谱 (LC-MS/MS) 技术弥补了色谱和质谱单一技术的缺陷, 通过色谱高效分离、质谱高灵敏度及抗干扰离子监测等性能的有机结合, 能够准确测定基质复杂的蔬菜中目标化合物。现有农药残留检测标准方法中, 多采用 SPE 法进行前处理, 该方法通过活化、上样、洗脱、浓缩过程实现, 准确性较好, 但是耗力、费时, 不够快捷, 而 QuEChERS 在食品安全监测方法前处理中, 具有溶剂使用量少、环境友好、精密度和准确度高、操作简便、成本低的优点, 被广泛应用。本文以常规蔬菜中 6 种检出率相对较高的农药为研究对象, 引入 QuEChERS 前处理方法, 采取 LC-MS/MS 测定, 通过方法线性、精密度、回收率等指标考察方法性能, 以建立检测效率高、费用低且灵敏度好的检测方法。

1 材料与方 法

1.1 材料与试剂

乙腈、甲酸、乙酸铵 (均为色谱纯); 氯化钠 (分析纯); 实验用水为自制超纯水, 吸附剂聚四氟乙烯滤膜 (Poly Tetrafluoro Ethylene, PTFE, 0.22 μm)、乙二胺-N-丙基硅烷 (Primary Secondary Amine, PSA)。甲胺磷、氯唑磷、毒死蜱、氧乐果、啶虫脒、三唑磷标准溶液 (坛墨, 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 溶剂乙腈); 番茄、芹菜、韭菜、萝卜等蔬菜样品 (市购)。

1.2 仪器与设备

超高效液相色谱-串联三重四极杆质谱仪 (Waters TQS/I-Class); 涡旋仪 (IKA DL-866); 台式高速冷冻离心机 (SIGMA 3K15); 超纯水系统 (Milli-Q); 电子分析天平 (FA3204B, 万分之一); 超声波清洗器 (KQ-800KDE);

氮吹仪 (TTL-DCI)。

1.3 标准溶液配制

系列农药标准品配制: 各标准品溶液分别精确量取适量, 乙腈稀释后, 完成混合标准中间液的配制 (10.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$)。基质标准溶液: 混合标准中间液精确量取适量, 采取不含目标物检出的蔬菜样品为空白基质, 完成基质匹配系列标准溶液的配制 (浓度为 0.1、0.2、0.5、1、2、5 $\mu\text{g}/\text{mL}$), 混匀过滤待测。

1.4 样品前处理

蔬菜样品经粉碎后, 精确称取 10.00g 至 50mL 离心管中, 加入 10.0mL 乙腈提取并匀浆, 持续 30min 超声提取, 添加 2.0g 氯化钠后震荡 2min, 离心 5min (4000r/min)。取 1.5mL 上清液, 添加 QuEChERS 净化包后涡旋 1min、离心 3min (10000r/min), 取 1.0mL 上清液, 氮吹近干, 10% 乙腈水溶液 1.0mL 复溶, 涡旋混匀后待测。

1.5 仪器条件

色谱条件: 色谱柱 ACQUITY UPLC[®] BEH C18 2.1 \times 50mm, 1.7 μm , 柱温 40 $^{\circ}\text{C}$, 乙腈、含 0.1% 甲酸的 5mmol 乙酸铵溶液分别为流动相 A、B; 进样量 2 μL , 流速 0.3mL/min; 梯度洗脱程序为 10% ~ 30%A, 0 ~ 2.0min; 30% ~ 40%A, 2.0 ~ 3.0min; 40% ~ 90%A, 3.0 ~ 6.0min; 90%A, 维持 1min; 90%A ~ 10%A, 7 ~ 7.5min; 10%A, 7.5 ~ 10.0min。

质谱条件: 多反应监测模式 (MRM); 离子源 (ESI+); 锥孔电压 25V, 碰撞能量 15V, 干燥气流量: 700L/Hr; 干燥气温度: 600 $^{\circ}\text{C}$; 雾化气压力: 6.2Bar。数据采集和处理自动优化软件 Masslynx 4.0。

2 结果及分析

2.1 方法检出限及定量限

以线性范围最低质量浓度为依据进样，方法检出限计算采取 $S/N=3$ ，定量限计算采取 $S/N=10$ 。根据表 1 得知，

啶虫脒检出限和定量限同时最低，分别为 $0.01 \mu\text{g}/\text{kg}$ 、 $0.02 \mu\text{g}/\text{kg}$ ；氧乐果检出限相对偏高，为 $0.06 \mu\text{g}/\text{kg}$ ，其定量限也最高，为 $0.18 \mu\text{g}/\text{kg}$ 。其他农药检出限不超过 $0.02 \mu\text{g}/\text{kg}$ ，定量限不超过 $0.06 \mu\text{g}/\text{kg}$ 。

表 1 6 种农药基质标准溶液的方法检出限及定量限

序号	名称	溶液浓度 (mg/L)	信噪比 (S/N)	检出限 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	定量限 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	标准定量限 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)
1	甲胺磷	0.1	1670	0.02	0.06	7
2	氯唑磷	0.25	2841	0.02	0.05	5
3	毒死蜱	0.1	2157	0.01	0.05	10
4	氧乐果	0.1	1539	0.06	0.18	33
5	啶虫脒	0.1	2694	0.01	0.02	10
6	三唑磷	0.1	2036	0.01	0.04	37

2.2 回收率与精密度

分别取 10.0g 未检出目标物的番茄、芹菜、韭菜及萝卜 4 种蔬菜样品作为空白，按照高、中、低 3 个水平添加浓度梯度的不同农药标准品，以 1.4 步骤为依据对样品进行前处理，平行操作每种浓度 3 次，对方法回

收率及精密度展开考察。表 2 以韭菜为基质呈现了不同浓度梯度农药精密度及回收率数据结果。通过表中数据得知，6 种农药呈现出 $0.7\% \sim 9.6\%$ 范围内的精密度及 $74.0\% \sim 100.3\%$ 范围内的平均加标回收率。

表 2 以韭菜为基质 6 种农药加标回收率与精密度

序号	名称	加标浓度 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	实测值 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)			平均实测值 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	精密度 RSD/%	平均回收率 /%
1	甲胺磷	2.0	1.61	1.67	1.58	1.62	2.8	81.0
		10.0	8.96	9.4	9.26	9.21	2.4	92.1
		40.0	39.6	40	40.8	40.13	1.2	100.3
2	氯唑磷	2.0	1.46	1.59	1.4	1.48	6.5	74.0
		10.0	8.19	8.85	9.14	8.73	5.6	87.3
		40.0	37.7	38.4	39.1	38.40	1.8	96.0
3	毒死蜱	2.0	1.53	1.64	1.62	1.60	3.7	80.0
		10.0	8.2	7.91	7.86	7.99	2.3	79.9
		40.0	30.6	32.3	35.4	32.77	7.4	81.9
4	氧乐果	2.0	1.66	1.62	1.49	1.59	5.6	79.5
		10.0	7.36	8.68	8.8	8.28	9.6	82.8
		40.0	35.4	34.7	34.2	34.77	1.7	86.9
5	啶虫脒	2.0	1.85	1.81	1.82	1.83	1.1	91.5
		10.0	9.47	9.45	9.58	9.50	0.7	95
		40.0	37.8	39.3	38.5	38.53	1.9	96.3
6	三唑磷	2.0	1.46	1.61	1.56	1.54	4.9	77.2
		10.0	8.05	8.5	8.86	8.47	4.8	84.7
			38.8	38.7	41.3	39.60	3.7	99.0

2.3 线性方程与相关系数

结合番茄、芹菜、韭菜及萝卜空白基质进行 6 种农药混合基质系列标准工作溶液的配制，确定横、纵坐标分别为浓度 (X) 与质谱峰面积 (Y)，完成标准工作曲

线的绘制。由表 3 得知，相应测定浓度范围内，6 种农药呈现出良好的线性相关性，达到 1.0000 线性系数的有啶虫脒与三唑磷，其余 4 种农药则达到 0.9991 及以上的线性系数，满足相关标准要求。

表 3 6 种农药基质标准溶液线性方程与相关系数

序号	名称	线性范围	线性回归方程	相关系数 (r)
1	甲胺磷	0.10 ~ 5.00	$Y=23285.6X+10977.3$	0.9998
2	氯唑磷	0.10 ~ 5.00	$Y=35066.7X+9808.33$	0.9998
3	毒死蜱	0.10 ~ 5.00	$Y=62300.4X-63397.1$	0.9991
4	氧乐果	0.10 ~ 5.00	$Y=73038.9X+16005.3$	0.9997
5	啶虫脒	0.10 ~ 5.00	$Y=146953X+18706.5$	1.0000
6	三唑磷	0.10 ~ 5.00	$Y=93671.4X+13344.0$	1.0000

2.4 实际样品检测

以上论述的分析条件及样品处理方法为根据,以市购番茄、芹菜、韭菜及萝卜四种蔬菜为对象,每种样品10份,共计40份样品,检测6种农药残留。根据检测结果得知,有多批次蔬菜样品中检出甲胺磷、氯唑磷、毒死蜱、氧乐果、啶虫脒、三唑磷6种农药,但其含量均小于国家标准限量。

3 讨论

3.1 QuEChERS 净化条件的优化

盐析试剂选择无水硫酸镁时,因其具备较大的吸水放热效应,离心管盖处会有热气流冲出,所以振荡时应开启用于放气的离心管盖,操作费时费力且十分繁琐^[1]。同时,热效应的存在,可能会导致部分热稳定性偏差的农药受热降解或挥发,从而降低回收率。而选择盐析试剂为氯化钠时,热效应不大、成本低、操作简单,能取得较高的回收率,且基本上不会带给后续质谱进样基质干扰影响,即便有也很小^[2]。基于此,本试验最终确定盐析试剂为氯化钠。

GCB在去除样品中叶绿素及类胡萝卜素方面具备相当显著的效果,然而却也会强力吸附多菌灵等平面结构的农药分子,导致样品中此类农残回收率大幅下降。所以,本试验中的吸附剂并未选择GCB;C₁₈在非极性化合物(脂肪类)中能够发挥良好的去除作用,而蔬菜样品含极少的脂肪量,所以本试验也未选择C₁₈吸附剂;PSA在去除蔬菜色素、糖分及脂肪酸成分方面有着显著作用,所以本试验确定净化剂为PSA^[3]。试验中,围绕PSA不同用量的净化效果展开对比分析,根据结果得知,当增加PSA量后,会明显降低质谱基质干扰;增至100mg的PSA用量时,部分农药中如果含-SH、-OH等官能团,其回收率会下降。因此,本试验最终确定PSA用量为75mg。

3.2 提取溶剂的选择

甲醇、乙腈、酸化乙腈及丙酮等属于常见的农药残留超声提取溶剂。选择甲醇与丙酮时,会有大量水分带入其中,加大盐析除水操作难度,影响后续质谱进样。选择乙腈和酸化乙腈时,两者能取得较好的回收率,但酸化乙腈的保护作用仅在部分农药中发挥^[4]。本试验中,对比分析了纯乙腈与1%乙酸乙腈的效果,根据试验结果得知在不同极性农药中乙腈所发挥的提取效果较为良好,且能互溶于水,在盐作用下与水能够顺利分离。同时,选择乙腈提取时带入的杂质远少于酸化乙腈。基于此,

本试验最终确定提取溶剂为10mL乙腈。

3.3 基质效应的优化

蔬菜样品中色素、纤维素等植物性基质成分较大,会抑制或增强部分农药,导致最终检测结果准确性下降,即便引入一系列净化措施处理萃取液通常也无法彻底消除^[5]。而通过农残基质匹配标准曲线的运用,在蔬菜样品中基质效应的消除方面发挥着重要作用^[6]。为取得最佳的基质匹配效果,本试验以不含目标物的各类蔬菜样品为对象,经1.4章节处理获取基质空白液后,分别进行基质匹配混合系列标准曲线溶液的制备,以降低基质在质谱分析中的干扰。

综上所述,本试验中选择乙腈超声提取,样品基质经QuEChERS法净化后,采用LC-MS/MS测定蔬菜中6种农药残留。试验结果表明,该方法具备较高的准确度、回收率和灵敏度,操作简便,分离效能高,重现性良好,检出下限未超出国家食品安全限量标准,可用于蔬菜样品多种农药残留检测。

参考文献:

- [1] 冯涛,阮世勇,罗苑铭,等.LC-MS/MS测定蔬菜中苯醚甲环唑残留的研究[J].食品工程,2021(2):55-58.
- [2] 高娜,孙程鹏,许炳雯,等.液相色谱串联质谱法测定不同蔬菜中农药多残留的基质效应[J].食品科技,2021,46(4):310-317.
- [3] 司文帅,张颖,张耀丹,等.绿叶蔬菜中啶虫脒、氟啶虫脒残留的LC-MS/MS检测方法研究[J].上海农业学报,2021,37(6):132-135.
- [4] 黄科,张建莹,邓慧芬,等.超高效液相色谱串联质谱仪法测定蔬菜中20种酸性除草剂残留[J].分析科学学报,2019,35(6):824-830.
- [5] 黄兰淇,张正炜,陈秀,等.超高效液相色谱串联质谱仪同时检测蔬菜和水果中30种农药残留[J].世界农药,2021,43(7):46-53.
- [6] 陈俊秀,马晓年,李文廷,等.超高效液相色谱串联质谱仪法测定蔬菜中4种氨基甲酸酯类农药残留量[J].食品安全质量检测学报,2021,12(5):1789-1797.