

[12] 赵丹霞,王力清,黄秋研,等. 果汁饮品中三氯蔗糖离子色谱脉冲安培检测法的测定[J]. 农业机械,2013(3):65-67.

[13] Farhadi A, Keshavarzian A, Holmes E W, et al. Gas chromatographic method for detection of urinary sucralose; application to the assessment of intestinal permeability [J]. J Chromatogr B,2003,784(1):145-154.

[14] 周莉莉,杨颖,刘艳明,等. 超高效液相色谱-串联质谱法测定食品中的三氯蔗糖[J]. 分析测试学报,2011,30(10):1175-1178.

[15] 刘芳,王彦,王玉红,等. 固相萃取-高效液相色谱-蒸发光散射检测法同时检测食品中 5 种人工合成甜味剂[J]. 色谱,2012,30(3):292-297.

[16] 杜彦山,杨刚,夏静,等. 固相萃取-高效液相色谱法测定乳制品中三氯蔗糖[J]. 乳业科学与技术,2013,36(2):27-29.

[17] Stroka J, Dossi N, Ankla m E. Determination of the artificial sweetener sucralose by capillary electrophoresis [J]. Food Additives and Contaminants,2003,20(6):524-527.

[18] Mccourt J, Stroka J, Ankla m E. Experimental design-based development and single laboratory validation of a capillary zone electrophoresis method for the determination of the artificial sweetener sucralose in food matrices [J]. Anal Bioanal Chem, 2005,382(5):1269-1278.

[19] 陈义. 毛细管电泳技术及应用[M]. 北京:化学工业出版社,2006.

[20] Johns C, Macka M, Haddad P R. Enhancement of detection sensitivity for indirect photometric detection of anions and cations in capillary electrophoresis [J]. Electrophoresis, 2003, 24(12/13):2150-2167.

[21] Macka M, Johns C, Philip D A, et al. Indirect photometric detection in CE using buffered electrolytes-part I, Principles [J]. LC-GC North America,2001,19(1):38-46.

[22] Schellinger A P, Carr P W. Solubility of buffers in aqueous-organic eluents for reversed-phase liquid chromatography [J]. LC-GC North America,2004,22(6):544-548.

实验技术与方法

建立同时快速测定动物源性食品中 17 种农药的
在线凝胶渗透色谱-气相色谱-质谱联用法

吕飞¹,李华东¹,叶英²,卓晓娟¹,朱事康¹,黄刚¹

(1. 惠州出入境检验检疫局综合技术中心,广东 惠州 516006;
2. 岛津企业管理(中国)有限公司,广东 广州 510010)

摘要:目的 建立猪肉、鸡蛋、牛奶、猪脂肪等动物源性食品中同时检测 17 种农药残留的在线凝胶渗透色谱-气相色谱-质谱联用法(GPC-GC-MS)。**方法** 样品用正己烷饱和乙腈溶液均质提取,加入氯化钠盐析,离心分层,取部分乙腈层经固相萃取(NH₂)柱净化,利用在线 GPC-GC-MS 测定。**结果** 在 0.85~30 μg/L 范围内相关系数均在 0.95 以上,回收率在 61.2%~126% 之间。17 种农药残留最低检出限范围(以信噪比 S/N≥3 计)为 0.25~3.00 μg/L,定量限范围(以信噪比 S/N≥10 计)为 0.85~10.0 μg/L。**结论** 该法有效、耐用、快速、灵敏,符合法规残留限量检测要求。

关键词:动物源性食品;农药残留;同时;在线凝胶渗透色谱-气相色谱-质谱联用法;食品污染物;检测
中图分类号:R155.5;F767.2 **文献标志码:**A **文章编号:**1004-8456(2016)01-0069-07
DOI:10.13590/j.cjfh.2016.01.016

Establishment of a method for the simultaneous and rapid detection of 17 pesticide residues in animal derived foods using on-line GPC-GC-MS

LV Fei, LI Hua-dong, YE Ying, ZHUO Xiao-juan, ZHU Shi-kang, HUANG Gang
(Comprehensive Technology Center of Huizhou Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Guangdong Huizhou 516006, China)

Abstract: Objective To establish an on-line GPC-GC-MS analytic method to determine 17 pesticide residues simultaneously and rapidly in animal derived foods including pork, egg, milk and fat. **Methods** The pesticide residues

were extracted from samples with acetonitrile assisted by n-hexane, salting-out with NaCl and separated through acentric. The supernatant liquid was cleaned up by SPE (NH₂), and detected with on-line GPC-GC-MS system. **Results** The calibration curves of 17 pesticide residues were linear in the range of 0.85-30 μg/L with correlation coefficients above 0.95. The recoveries of the method ranged from 61.2% to 126%. The limits of detection and the limits of quantification were 0.25-3.00 μg/L (S/N≥3) and 0.85-10.0 μg/L (S/N≥10). **Conclusion** The method was effective, rapid, sensitive, and suitable for the monitoring of the maximum residue limits (MRLs) of 17 pesticide residues in animal derived foods.

Key words: Animal derived foods; pesticide; simultaneously; on-line gel permeation chromatography-gas chromatography-mass; food contaminate; detection

由于农药被长期大量使用与滥用,已成为食品的重要污染源之一。随着我国人民生活水平的提高,肉、水产品、蛋、乳类等动物源性食品在居民膳食结构中所占的比例越来越大,通过环境接触、食物链富集等进入动物体内的农药残留问题成为了关注热点。目前全世界的化学农药有 1 400 多种,普遍使用的杀虫剂、除草剂有 200 余种,农药的混合、复合使用导致动物源性食品中通常残留多种类型的农药,严重危害消费者身体健康。近年来我国在蔬果、茶叶等植物源性食品及水体、土壤等环境中的农残检测上已取得了较大进展,但针对动物源性食品农药残留检测,尤其是同时测定不同类型多农药残留的检测则研究较少^[1]。2014 年 8 月 1 日,香港《食物中残余除害剂规管方案》^[2]正式实施,方案对动物源性食品中农药残留做出了非常严格的限量要求,对动物源性食品农药残留检测提出了很高的技术要求。为了消费者食用动物源性食品的安全,提高我国动物源性食品农药多残留检测水平,建立同时检测不同类型多农药残留的方法显得十分重要和紧迫。

本文采用固相萃取-在线凝胶渗透色谱-气相色谱-质谱联用法(在线 GPC-GC-MS),同时提取、净化和检测猪肉、鸡蛋、牛奶、猪脂肪等动物源性样品中 17 种农药,包括环草敌(cycloate)、克百威(carbofuran)、西玛津(simazine)、二嗪磷(diazinon)、噻虫嗪(thiamethoxam)、杀扑磷(methidathion)、乙氧氟草醚(oxyfluorfen)、噻嗪酮(buprofezin)、啉草酮(carfentrazone-ethyl)、污菌酯(trifloxystrobin)、氟草敏(norflurazon)、炔螨特(propargite)、吡氟甲禾灵(haloxypop-etotyl)、丁硫克百威(carbosulfan)、乙基喹禾灵(quizalofop-ethyl)、氟啶草酮(fluridone)、氰戊菊酯(esfenvalerate)^[3]。建立了动物源性食品中 17 种农药残留的在线 GPC-GC-MS 检测方法,为监管机构开展工作提供依据。

1 材料与方法

1.1 主要仪器与试剂

在线凝胶渗透色谱-串联气质联用仪[GPC-GC-

MS-QP2010Ultra,配有电子轰击电源(EI),日本岛津]、离心机、旋转蒸发仪、固相萃取装置(美国 Waters)、Strata NH₂(500 mg/3 ml,美国 Phenomenex)、匀浆机、滤膜、分析天平(感量 0.000 1 g 和 0.01 g)、漩涡振荡器、超声波水浴锅。

环草敌(CAS:1134-23-2)、克百威(CAS:1563-66-2)、西玛津(CAS:122-34-9)、二嗪磷(CAS:300-76-5)、噻虫嗪(CAS:153719-23-4)、杀扑磷(CAS:950-37-8)、乙氧氟草醚(CAS:42874-03-3)、噻嗪酮(CAS:69327-76-0)、啉草酮(CAS:128621-72-7)、污菌酯(CAS:141517-21-7)、氟草敏(CAS:27314-13-2)、炔螨特(CAS:2312-35-8)、吡氟甲禾灵(CAS:87237-48-7)、丁硫克百威(CAS:55285-14-8)、乙基喹禾灵(CAS:76578-14-8)、氟啶草酮(CAS:59756-60-4)、氰戊菊酯(CAS:66230-04-4)均购自德国 Dr. Ehrenstorfer,正己烷、丙酮、环己烷、乙腈、甲苯均为色谱级,试验用水为超纯水。

1.2 方法

1.2.1 样品前处理

样品提取:称取 3.0 g(精确到 0.01 g)匀浆样品至 50 ml 离心管中,加入 5 ml 水、15 ml 正己烷饱和乙腈溶液、3 ml 正己烷,高速匀浆 2 min,混合漩涡 1 min,超声提取 30 min,加入 4 g 氯化钠,混合漩涡 1 min,8 000 r/min 离心 10 min,取乙腈层 5 ml,待净化。

净化:用 3 ml 乙腈活化萃取柱,将 5 ml 待净化液通过柱子(控制流速 < 0.5 ml/min),再用 6 ml 乙腈洗脱(控制流速 < 0.5 ml/min),收集净化液和洗脱液于 25 ml 浓缩瓶中,40 ℃ 旋转蒸发至干,加入 1 ml 乙腈溶解残渣,溶液过 0.22 μm 有机相滤膜,经在线凝胶渗透色谱-气相质谱联用仪测定^[4-11]。

1.2.2 标准溶液的配制

分别准确称取适量的环草敌、克百威、西玛津、二嗪磷、噻虫嗪、杀扑磷、乙氧氟草醚、噻嗪酮、啉草酮、污菌酯、氟草敏、炔螨特、吡氟甲禾灵、丁硫克百威、乙基喹禾灵、氟啶草酮、氰戊菊酯标准品,用丙酮配制成 100.0 mg/L 单一标准储备液,-24 ℃ 冰

箱保存。根据检测要求,用空白样品基质溶液制备标准工作曲线溶液。

1.2.3 仪器条件

在线凝胶渗透色谱:色谱柱为 Shodex CL Npak EV-200 柱(150 mm × 2.0 mm,粒径 16 μm,孔径 3 nm);流动相:丙酮-环己烷(3:7, V/V),流速 0.1 ml/min,柱温 40 ℃,进样量 10 μl,检测波长 210 nm,农药残留组分在线收集时间段:4.35 ~ 6.35 min。

气相色谱:气相色谱柱为惰性石英毛细管柱(5 m × 0.53 mm,内不含填料) + 石英毛细管分析柱 Rxi-5Sil MS 柱(25 m × 0.25 mm, 0.25 μm) + 石英毛细管预柱 Rxi-5Sil MS 柱(5 m × 0.25 mm, 0.25 μm);色谱柱升温程序:起始温度为 82 ℃,保持 5 min 后以 8 ℃/min 速率程序升温至 300 ℃,保持 7.75 min。载气为氦气,纯度 ≥ 99.999%,流速为 1.75 ml/min;进样方式:不分流进样,程序升温汽化进样口(PTV)进样;进样口程序:起始温度为 120 ℃,保持 5 min 后以 100 ℃/min 速率程序升温至 250 ℃,保持 31 min。

质谱:色谱-质谱接口温度:300 ℃;离子源温度:230 ℃;电子轰击源(EI)能量:70 eV;溶剂延迟时间:9.7 min;数据采集模式:离子检测扫描(SIM)^[12-17]。

2 结果与分析

2.1 提取溶剂选择

提取溶剂的选择采用“相似相溶原理”。本文同时测定 17 种农药既有极性较强的有机磷和除草

剂农药,也有极性较弱的菊酯类农药,综合考虑被测定 17 种农药的物理、化学性质,以及拟采用的试验方法,初步采用乙腈作为提取溶剂。但在随后的试验过程中发现动物源性食品中油脂成分多,给净化带来困难且样品添加回收也极低。分析原因可能是乙腈作为提取溶剂可溶入的油脂量极少,对动物源性食品中农药的提取效率低。而正己烷作为提取溶剂可溶入大量的油脂,经过对样品的充分净化,既可提高动物源性食品中农药的提取效率,又使样品添加回收率得到极大的提高,且均能满足相关法律法规的要求,具体回收数据在后文有所描述。所以本试验方法最终采用正己烷饱和乙腈溶液作为样品的提取溶剂^[18-19]。

2.2 固相萃取柱选择

由于动物肌肉中通常含有脂肪,需要进行固相萃取柱萃取。通过添加浓度均为 0.1 mg/L 标准混合溶液,对 OasisHLB(60 mg/3 ml)、Florisil PR(1 000 mg/ml)、Sep-Pak Vac C₁₈(500 mg/3 ml)、Sep-Pak Vac Alumina N(500 mg/3 ml)、Strata NH₂(500 mg/3 ml)5 种不同极性的萃取柱进行方法试验,选择合适的固相萃取柱^[20-23]。结果表明,Strata NH₂得到的回收率较高且稳定,最终确定的固相萃取条件如下:样品液转移至已预先用 3 ml 乙腈活化的固相萃取柱中,用 6 ml 乙腈洗脱液洗脱,同时收集净化液和洗脱液,进行浓缩和定容。试验表明采用 Strata NH₂ 固相萃取柱处理样品除杂质效果好,分析物有高回收率、重现性好。不同固相萃取柱的回收率见表 1。

表 1 17 种农药不同固相萃取柱的回收率结果(%)

Table 1 SPE extraction column recovery results					
农药	OasisHLB (60 mg/3 ml)	Florisil PR (1 000 mg/ml)	Sep-Pak Vac C ₁₈ (500 mg/3 ml)	Sep-Pak Vac Alumina N (500 mg/3 ml)	Strata NH ₂ (500 mg/3 ml)
环草敌	33.3	72.4	50.0	66.6	70.0
克百威	248.4	143.3	128.0	—	71.7
西玛津	4.3	3.7	4.0	62.7	97.3
二嗪磷	98.0	57.7	72.7	58.0	96.87
噻虫嗪	5.7	119.7	6.7	101.3	104.7
杀扑磷	65.4	81.2	62.7	43.5	113.2
乙氧氟草醚	84.3	106.7	85.7	64.0	102.3
噻嗪酮	248.0	87.7	298.3	62.3	97.7
啶草酮	5.0	161.7	99.3	57.0	113.3
污菌酯	169.3	130.0	117.7	62.0	95.0
氟草敏	—	64.0	2.7	54.0	93.0
炔螨特	135.7	46.0	19.3	39.7	106.0
吡氟甲禾灵	125.0	64.0	85.0	57.0	99.7
丁硫克百威	2.0	2.7	—	53.0	75.3
乙基噻禾灵	124.3	65.0	2.0	63.3	107.3
氟啶草酮	107.7	49.7	65.0	48.0	94.7
氰戊菊酯	30.0	16.0	25.0	6.7	71.4

注:—表示未检出

2.3 方法学验证

2.3.1 方法的线性范围、检出限和定量限

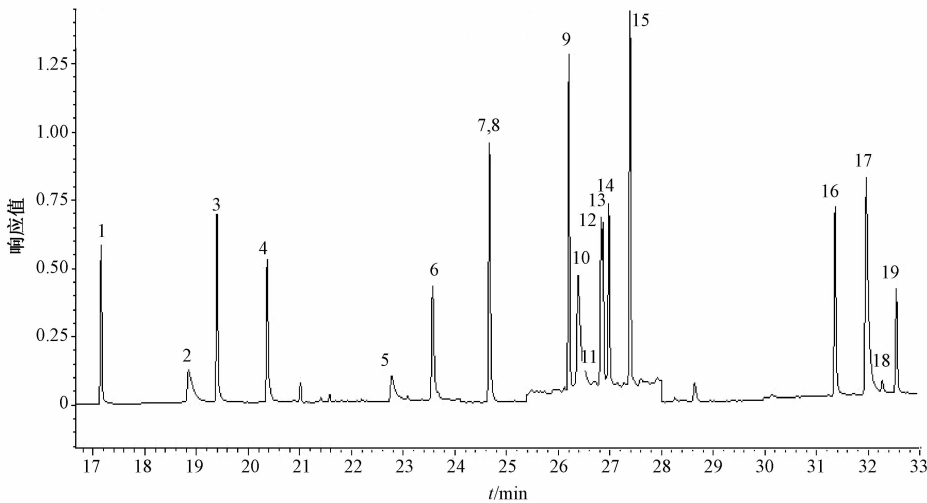
用空白基质配制 17 种农药质量浓度依次为 0.85、1.5、5.0、10.0、30 $\mu\text{g/L}$ 的系列混合标准溶液。以目标组分的峰面积(y)对相应的质量浓度($x, \mu\text{g/L}$)绘制标准曲线。结果表明,其相关系数(r)均大于 0.95,各种

农药质量浓度在 0.85 ~ 30 $\mu\text{g/L}$ 范围内具有良好的线性关系。结果见表 2。以信噪比($S/N \geq 3$)确定 17 种组分检出限(LOD)范围为 0.25 ~ 3.00 $\mu\text{g/L}$,以信噪比($S/N \geq 10$) 确定 17 种组分定量限(LOQ) 范围为 0.85 ~ 10.0 $\mu\text{g/L}$ 。结果完全符合法规对以上组分农药残留限量的要求。17 种农药色谱图见图 1。

表 2 17 种农药保留时间、选择离子、线性相关系数、检出限及定量限
Table 2 Retention times, selected ion, correlation coefficients(r), limits of detection ($LODs$) and limits of quantification ($LOQs$) of the 17 pesticides

农药	保留时间/min	选择离子对/(m/z)	r	$LOD/(\mu\text{g/L})$	$LOQ/(\mu\text{g/L})$
环草敌	17.15	154 [*] /215,154/155	0.958 4	0.55	1.85
克百威	18.71	164 [*] /149,164/221	0.966 6	1.75	5.85
西玛津	18.83	201 [*] /186,201/173	0.987 7	0.45	1.50
二嗪磷	19.40	304 [*] /137,304/179	0.984 5	0.30	1.00
噻虫嗪	22.68	212 [*] /182,212/247	0.967 8	1.80	6.00
杀扑磷	23.55	145 [*] /125,145/302	0.989 8	0.58	1.95
乙氧氟草醚	24.65	252 [*] /300,252/361	0.996 5	0.27	0.90
噻嗪酮	24.68	105 [*] /172,105/305	0.994 0	0.30	1.00
唑草酮	26.10	330 [*] /340,330/312	0.958 8	3.00	10.0
污菌酯	26.21	116 [*] /131,116/222	0.976 8	0.90	3.00
氟草敏	26.30	303 [*] /145,303/173	0.970 2	1.10	3.70
炔螨特-1	26.83	135 [*] /173,135/350	0.974 4	1.00	3.50
炔螨特-2	26.86	135 [*] /173,135/350	0.974 4	1.00	3.50
吡氟甲禾灵	26.98	302 [*] /272,302/316	0.978 6	1.10	3.70
丁硫克百威	27.39	118 [*] /160,118/323	0.998 7	0.25	0.85
乙基喹禾灵	31.34	299 [*] /372,299/243	0.987 6	0.60	2.00
氟啶草酮	31.89	328 [*] /329,328/310	0.984 5	0.75	2.50
氰戊菊酯-1	32.26	167 [*] /225,167/419	0.983 2	0.60	2.00
氰戊菊酯-2	32.53	167 [*] /225,167/419	0.983 2	0.60	2.00

注: * 为定量离子;炔螨特-1 和炔螨特-2 互为同分异构体,故算作一种农药,氰戊菊酯同理



注:1. 环草敌;2. 克百威;3. 西玛津;4. 二嗪磷;5. 噻虫嗪;6. 杀扑磷;7. 乙氧氟草醚;8. 噻嗪酮;9. 唑草酮;10. 污菌酯;11. 氟草敏;12. 炔螨特-1;13. 炔螨特-2;14. 吡氟甲禾灵;15. 丁硫克百威;16. 乙基喹禾灵;17. 氟啶草酮;18. 氰戊菊酯-1;19. 氰戊菊酯-2

图 1 17 种农药的标准色谱图(浓度 0.10 mg/L)

Figure 1 TIC chromatograms of 17 pesticides

2.3.2 添加回收率

本文采用基质匹配标准溶液-外标法,对猪肉、鲜鸡蛋、牛奶、猪脂肪等空白样品添加 17 种农药混合标准溶液进行加标回收率试验。加标浓度为分

别为 0.85、1.5、30.0 $\mu\text{g/kg}$,按照 1.2.1 前处理方法,分别各平行处理 6 份,样品回收率及精密度结果见表 3。样品回收率在 61.2%~126% 之间。相对标准偏差在 1.3%~9.7% 之间。

表 3 17 种农药加标回收率及精密度结果($n=6$)

Table 3 Recoveries and precisions of 17 pesticides									
农药	添加浓度 /($\mu\text{g/kg}$)	猪肉		鸡蛋		牛奶		猪脂肪	
		回收率/%	RSD /%	回收率/%	RSD /%	回收率/%	RSD /%	回收率/%	RSD /%
环草敌	0.85	75.0	9.7	62.8	4.2	66.3	8.7	81.5	8.9
	1.5	74.4	7.5	64.8	5.2	57.8	3.2	81.8	7.8
	30	82.8	2.5	71.2	6.0	70.3	3.5	64.0	7.1
克百威	0.85	86.1	4.2	80.8	2.3	66.6	5.3	100.7	7.5
	1.5	77.4	1.8	84.4	1.9	77.4	6.7	92.1	4.2
	30	118	3.5	100	3.6	96.2	3.4	70.9	4.4
西玛津	0.85	85.6	7.9	74.8	1.0	73.3	5.4	98.0	4.3
	1.5	79.8	6.5	79.2	2.9	71.9	6.7	86.7	7.2
	30	106	3.1	97.7	3.2	99.6	6.4	101.7	4.3
二嗪磷	0.85	70.7	2.5	73.4	3.3	72.2	8.5	81.3	3.0
	1.5	96.9	1.8	96.1	4.8	72.3	7.6	82.4	5.5
	30	109	2.0	97.2	6.4	94.9	2.9	87.0	6.9
噻虫嗪	0.85	76.9	3.9	77.9	6.7	77.3	5.1	77.6	4.2
	1.5	84.0	2.2	83.2	6.5	83.2	8.9	84.0	5.5
	30	101	6.4	98.0	7.3	106	5.1	103	7.0
杀扑磷	0.85	117	4.9	108	3.0	95.4	6.7	120	4.8
	1.5	96.0	2.6	99.8	3.6	103	6.6	115	8.4
	30	126	2.1	123	1.8	123	9.4	113	5.6
乙氧氟草醚	0.85	77.4	1.7	77.4	2.5	92.5	2.8	96.6	4.0
	1.5	90.2	3.9	90.2	5.1	83.1	4.6	89.2	5.3
	30	109	3.5	103	4.1	121	3.5	102	3.8
噻嗪酮	0.85	84.4	6.1	74.8	6.4	82.8	5.9	91.0	4.2
	1.5	86.1	1.3	94.3	9.2	85.6	8.6	74.7	5.9
	30	118	3.4	107	2.1	112	4.5	91.9	6.6
啶草酮	0.85	75.2	3.3	75.9	1.8	74.2	6.1	75.0	4.0
	1.5	73.7	8.1	75.2	5.5	91.6	4.7	102	3.6
	30	90.6	7.4	84.4	6.8	94.4	10	89.0	7.2
污菌酯	0.85	79.8	2.0	80.4	2.3	90.6	3.4	80.1	2.0
	1.5	75.4	5.0	90.2	4.8	85.3	3.7	87.7	4.4
	30	98.7	3.9	86.4	5.7	87.1	2.4	75.4	5.7
氟草敏	0.85	92.1	2.7	96.0	7.5	95.0	6.6	89.9	6.2
	1.5	86.6	4.1	89.8	3.9	95.3	2.6	72.4	8.0
	30	102	3.2	92.3	5.4	95.2	2.1	95.5	6.7
炔螨特	0.85	71.2	1.6	70.6	3.2	69.0	4.1	77.8	4.4
	1.5	73.4	4.6	75.4	5.0	70.2	6.5	73.3	5.4
	30	110	5.5	96.6	5.7	100	7.0	82.1	5.8
吡氟甲禾灵	0.85	80.1	3.9	69.6	5.3	75.2	7.2	88.6	5.0
	1.5	87.9	7.7	85.2	6.5	83.9	4.3	84.0	3.2
	30	86.2	6.2	96.6	5.5	98.1	1.6	75.8	6.1
丁硫克百威	0.85	85.9	2.7	71.0	3.5	62.8	4.7	65.6	3.0
	1.5	79.6	6.0	88.4	3.7	91.8	5.0	65.8	3.7
	30	106	2.6	85.5	4.3	96.0	6.0	69.5	4.6
乙基噻禾灵	0.85	64.7	1.8	64.3	4.5	65.5	4.0	69.9	6.7
	1.5	64.7	7.4	70.9	4.6	72.6	3.6	73.7	5.7
	30	109	3.0	113	4.4	116	4.5	78.3	7.7
氟啶草酮	0.85	64.2	3.2	67.1	4.9	67.4	8.3	66.0	9.6
	1.5	80.5	7.3	64.3	8.8	73.2	6.7	58.2	3.8
	30	100	3.1	86.3	5.8	98.4	5.8	86.2	5.7
氰戊菊酯	0.85	61.2	8.6	68.5	9.2	74.9	7.9	74.7	6.4
	1.5	65.2	9.0	64.7	8.7	80.0	6.3	79.6	5.5
	30	110	6.3	91.3	4.4	104	1.4	82.1	8.0

2.4 基质效应

基质效应是用质谱进行农药残留分析时必须考虑的问题。基质效应会严重影响某些待测物的准确定量与定性。由于基质效应的产生原因复杂、

来历多样,因而难以根本消除基质效应的影响。在表 3 中可以发现杀扑磷在 4 种基质中的添加回收在 95.4% ~ 126% ,表明有明显的基质增强效应存在。据研究表明,有机磷农药为热不稳定或在进样口吸

附作用较大的物质,易受基质效应影响。所以,有机磷农药测定的过程中普遍存在基质增强效应现象。即使同种基质对不同有机磷农药的效应不同,如表 3 中的二嗪磷和杀扑磷,基质增强效应对杀扑磷的影响更大^[24]。据报道,用以清除或补偿基质效应的方法有:基质净化法、同位素内标法、空白基质配制标准溶液等^[25-26]。为了能较好地减小基质效应的影响,本试验采用空白基质配制标准溶液制备标准工作曲线进行校正。

3 小结

本方法建立了正己烷饱和乙腈提取样品,固相萃取(NH₂)柱净化,在线 GPC-GC-MS 检测动物源性食品中 17 种农药残留的方法。该方法检出限能满足相关法规的要求,多残留组分的分析时间短,准确度高,可以作为动物源性食品中 17 种农药残留检测的方法。

此外,虽然本方法采用正己烷饱和乙腈提取样品,固相萃取(NH₂)柱净化,能去除绝大部分动物源性食品中的杂质,能快速、准确的定量和定性。但在线 GPC-GC-MS 随着进样次数的不断增加,仪器的灵敏度逐步下降,仪器的维护频率增加。鉴于此,本方法下一步应重点考虑动物源性食品的样品前处理中油脂的去除及提取方法的改进,以便减少仪器的维护频率,增加仪器使用寿命。

参考文献

[1] 李君君,李力军,徐惠诚,等. 动物源性食品中农药多残留检测前处理技术研究进展[J]. 中国食品卫生杂志,2012,24(4):403-406.

[2] Food and Environmental Hygiene Department of Hong Kong. Draft guidelines on food classification for the pesticide residues in food regulation[Z]. 2014.

[3] 朱鹏飞,刘文卫,凌霞,等. 超高效液相色谱-线性离子阱同时检测动物源性样品中 7 种 β_2 受体激动剂[J]. 中国食品卫生杂志,2015,27(1):22-26.

[4] LIU L B, Yuki H S, QIN Y P. Development of automated online gel permeation chromatography-gas chromatograph mass spectrometry for measuring multiresidual pesticides in agricultural products [J]. Chromatogr B, 2007, 845(1):61-68.

[5] KANG Q H, WU Y, GAO K Y, et al. Determination of 28 organochlorine and pyrethroid pesticides in pine nuts using solid-phase extraction and on-line gel permeation chromatography-gas chromatography/mass spectrometry [J]. Chromatogr, 2009, 27(2):181-185.

[6] WU Y, KANG Q H, GAO K Y, et al. Determination of 44 organophosphorous pesticides residual in chestnut using solid phase extraction and on-line gel permeation chromatography/gas chromatography-mass spectrometry [J]. Anal Chem, 2009, 37(5):753-757.

[7] LI J M, ZHONG D B, WANG Y Q, et al. Determination of 153 pesticide residues in tea using on-line gel permeation chromatography-gas chromatography/mass spectrometry [J]. Chromatogr, 2010, 28(9):840-848.

[8] JIA W, LING Y, HAO J, et al. Rapid determination of 29 pesticide residues in cereals and oil crops by online gel permeation chromatography coupled with gas chromatography-mass spectrometry[J]. Instrum Anal, 2012, 31(10):1217-1222.

[9] ZHOU C, WANG Z C, LUO M B, et al. Determination of eighteen organochlorine pesticides in dust by QuEChERS-GPC/GC-MS [J]. Instrum Anal, 2013, 32(11):1354-1358.

[10] OUYANG Y F, TANG H B, WU Y, et al. Rapid determination of pesticide multiresidues in vegetables and fruits by accelerated solvent extraction coupled with online gel permeation chromatography-gas chromatography-mass spectrometry [J]. Chromatogr, 2012, 30(7):654-659.

[11] RUAN H, RONG W G, MA Y J, et al. Determination of 34 pesticide residues in rice, proso millet and wheat with QuEChERS-on line gel permeation chromatography-gas chromatography-mass spectrometry [J]. Chromatogr, 2013, 31(12):1211-1217.

[12] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局,中国国家标准化管理委员会. GB/T 23200—2008 桑枝、金银花、枸杞子和荷叶中 488 种农药及相关化学品残留量的测定 气相色谱-质谱法[S]. 北京:中国标准出版社,2008.

[13] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局,中国国家标准化管理委员会. GB/T 23204—2008 茶叶中 519 种农药及相关化学品残留量的测定 气相色谱-质谱法[S]. 北京:中国标准出版社,2008.

[14] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局,中国国家标准化管理委员会. GB/T 23207—2008 河豚鱼、鳗鱼和对虾中 485 种农药及相关化学品残留量的测定 气相色谱-质谱法[S]. 北京:中国标准出版社,2008.

[15] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局,中国国家标准化管理委员会. GB/T 23210—2008 牛奶和奶粉中 511 种农药及相关化学品残留量的测定 气相色谱-质谱法[S]. 北京:中国标准出版社,2008.

[16] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局,中国国家标准化管理委员会. GB/T 23216—2008 食用菌中 503 种农药及相关化学品残留量的测定 气相色谱-质谱法[S]. 北京:中国标准出版社,2008.

[17] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局,中国国家标准化管理委员会. GB/T 19648—2006 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[S]. 北京:中国标准出版社,2006.

[18] SU J F, LIN G Y, LIAN W H, et al. Two sample pretreatment methods and their applications in the determination of 111 pesticides and related chemicals in aquatic products [J]. Chromatogr, 2008, 26(3):292-300.

[19] HE L M, LIU X G, ZENG Z L. Solutions to matrix-induced response enhancement in pesticide residue analysis by gas chromatography[J]. Chromatogr, 2008, 26(1):98-104.

[20] 曲斌,朱志谦,陆桂萍,等. QuEChERS 净化法结合亲水作用色谱串联质谱测定鸡蛋中利巴韦林残留[J]. 畜牧与兽医, 2014, 46(2):71-74.

[21] 邢若葵,温锦锋,王松才,等. 自动固相萃取法(SPE)提取常见安眠镇静药[J]. 刑事技术,2003(3):12-15.

[22] 周淑光,徐婉. 固相萃取技术在生物样品中微量毒物分析的研究与应用[J]. 中国法医学杂志,1995,10(2):126-128.

[23] SU J F, CHEN J, CHEN J X, et al. Determination of dicofol residue in eel by gas chromatography-mass spectrometry [J]. Chromatogr,2010,28(1):84-88.

[24] 杨旭,汤佳峰,巢文军,等. 基质效应对有机磷农药测定的影响及其解决方法[J]. 分析测试学报,2009,28(12):1368-1372.

[25] DU J, LV B, ZHU P, et al. Determination of 30 organochlorine pesticides in animal-originated food products using combined purification by gel permeation chromatography and solid-phase extraction coupled with gas chromatography-mass spectrometry [J]. Chromatog,2013,31(8):739-746.

[26] Lehotay S J, Ae Son K, Kwon H, et al. Comparison of QuEChERS sample preparation methods for the analysis of pesticide residues in fruits and vegetables [J]. Chromatogr A, 2010, 1217(6):25-48.

实验技术与方法

鉴别绵羊肉中狐狸源性成分的环介导等温扩增检测方法的建立

刘少宁¹,陈智²,张志民¹,曹淑强³,姚震⁴

(1. 山东省兽药质量检验所 山东省畜产品质量安全监测与风险评估重点实验室,山东 济南 250022;
2. 山东省农业科学院 山东省畜禽疫病防治与繁育重点实验室,山东 济南 250100;
3. 沂水县畜牧局,山东 沂水 276400; 4. 德州职业技术学院,山东 德州 253034)

摘要:**目的** 建立一种能够快速区分出绵羊肉中掺入的狐狸源性成分的环介导等温扩增(loop-mediated isothermal amplification,LAMP)检测方法。**方法** 针对狐狸线粒体 *CoxI* 基因分别设计两条外引物和两条内引物,优化 LAMP 反应条件后并进行特异性和灵敏性试验,对绵羊肉中狐狸源性成分进行检测。**结果** 在 0.2 μmol/L 外引物(*F3* 和 *B3*)、1.6 μmol/L 内引物(*FIP* 和 *BIP*)、0.5 mol/L 甜菜碱、0.4 mmol/L dNTP、4 mmol/L MgSO₄ 等参数的优化条件下,可检测出掺假率为 1.0% 的羊肉制品,即最低检测浓度为 2 × 10⁻⁴ ng/μl。**结论** 本文所建立的 LAMP 法特异性强、灵敏度高,能有效地对绵羊肉中狐狸源性成分进行检测,可作为羊肉掺假的一种快速检测方法。

关键词: 环介导等温扩增技术; 动物源性成分; 掺假; 羊肉; 狐狸肉; 鉴别; 食品

中图分类号:R155.5;TS251.5⁺3 文献标志码:A 文章编号:1004-8456(2016)01-0075-04
DOI:10.13590/j.cjfh.2016.01.017

Development of a LAMP method for the identification of fox-derived ingredients in mutton

LIU Shao-ning, CHEN Zhi, ZHANG Zhi-min, CAO Shu-qiang, YAO Zhen

(Shandong Institute of Veterinary Drug Quality Inspection, Shandong Key Laboratory for Quality Safety Monitoring and Risk Assessment of Amino Products, Shandong Jinan 250022, China)

Abstract: Objective Loop-mediated isothermal amplification (LAMP) method was developed to detect fox-derived ingredients in mutton. **Methods** Four pairs of specific primers (*F3*, *B3*, *FIP*, *BIP*) were designed, respectively. The sensitivity and specificity test were performed after the LAMP assay was optimized. Then the detection of fox-derived ingredients in mutton was carried out. **Results** The optimized condition was 0.2 μmol/L each of *F3* and *B3*, 1.6 μmol/L each of *FIP* and *BIP*, 0.5 mol/L betaine, 0.4 mmol/L dNTP and 4 mmol/L MgSO₄. 1.0% adulterated fox-derived ingredients could be detected specifically. The limit of detection was 2 × 10⁻⁴ ng/μl. **Conclusion** This method is highly specific and sensitive, and could be a very useful tool for mutton adulteration detection

Key words: Loop-mediated isothermal amplification; animal-derived materials; adulteration; mutton; fox; identify; food