

毒素[J]. 中国粮油学报, 2006, 21(6): 160-162.

[11] REN Y P, ZHANG Y, SHAO S L, et al. Simultaneous determination of multi-component mycotoxin contaminants in foods and feeds by ultra-performance liquid chromatography

tandem mass spectrometry [J]. J Chromatogr A, 2007, 1143 (1/2): 48-64.

[12] 中华人民共和国卫生部. GB 2761—2011 食品安全国家标准 食品中真菌毒素限量[S]. 北京: 中国标准出版社, 2011.

实验技术与方法

全自动固相萃取-气相色谱-三重四级杆质谱法检测蔬菜中 23 种农药残留

刘苗, 甘平胜, 朱惠扬, 李晓晶, 杨荣, 彭荣飞
(广州市疾病预防控制中心, 广东 广州 510440)

摘要:目的 建立蔬菜中有机磷类、拟除虫菊酯类共 23 种农药残留的分析方法。方法 样品加丙酮-二氯甲烷 (1:1, V/V) 混合溶剂提取后经全自动固相萃取仪净化, 采用气相色谱-三重四级杆串联质谱的多反应监测模式进行检测, 内标法定量。结果 23 种农药在 0.05~0.80 mg/L 范围内线性良好, 相关系数均大于 0.993 3; 加标回收率在 75.0%~105.5% 之间; 方法的检出限为 0.02~0.70 mg/kg。在少量蔬菜样品中发现氯氰菊酯和氯氟氰菊酯超标。结论 该方法适用于蔬菜中多种农药残留的快速筛查测定。

关键词:全自动固相萃取; 气相色谱-三重四级杆串联质谱; 农药残留; 蔬菜; 食品污染物; 食品安全

中图分类号: R155.5 文献标志码: A 文章编号: 1004-8456(2016)04-0471-06

DOI: 10.13590/j.cjfh.2016.04.013

Determination of 23 pesticide residues in vegetables by automatic solid phase extraction and gas chromatography coupled with triple quadrupole tandem mass spectrometry

LIU Miao, GAN Ping-sheng, ZHU Hui-yang, LI Xiao-jing, YANG Rong, PENG Rong-fei

(Guangzhou Center for Disease Prevention and Control, Guangdong Guangzhou 510440, China)

Abstract: Objective A method was developed for the determination of 23 pesticides residues in vegetables, including organophosphorus and pyrethroid pesticides. **Methods** The pesticides in samples were extracted with acetone/dichloromethane (1:1, V/V) and cleaned up by automatic solid-phase extraction. The collected solution was analyzed by triple quadrupole gas chromatography-tandem mass spectrometry using multiple reaction monitoring (MRM) with internal standard. **Results** It showed good linearity with the correlation coefficients above 0.993 3 in the range of 0.05-0.80 mg/L, the recoveries were in the range of 75.0%-105.5%, and the limits of detection (LOD) were 0.02-0.70 mg/kg. The residues of cypermethrin and cyhalothrin exceeded the standard in a few vegetable samples. **Conclusion** The method could be applied to the routine analysis for various pesticides in vegetable samples.

Key words: Automatic solid-phase extraction; gas chromatography coupled with triple quadrupole mass spectrometry; pesticide residues; vegetable; food contaminant; food safety

农药残留污染等食品安全问题已严重危害到人们的身体健康, 一些研究表明, 菊酯类及有机磷农药等可引发癌症、免疫系统、神经系统疾病和激素功能破坏等健康问题^[1]。蔬菜是与人类生活息息相关的食物之一, 因此蔬菜的食用安全成为检测人员的重要关注目标。传统的农药残留主要

采用振荡、超声、加速溶剂萃取等^[2-3]手段进行样品提取, 再通过固相萃取、固相微萃取^[4]、基质分散固相萃取^[5]等技术进行样品净化, 再借助气相色谱^[6]、气相色谱-质谱^[7-8]、液相色谱-串联质谱^[9]等仪器进行检测。气相色谱定性能力较差, 液相色谱-串联质谱设备昂贵, 普及程度不高, 而气相色谱-串联质谱 (GC-MS/MS) 具有成本相对低和定性、定量能力强的特点。目前农药残留检测存在前处理操作繁琐等缺点, 需使用大量的有机溶剂, 操作人员

收稿日期: 2015-11-02

作者简介: 刘苗 女 理化检验技师 研究方向为食品安全风险监控

E-mail: liumiao3368918@163.com

频繁地暴露在溶剂中对健康危害很大,会造成呼吸不畅、胸闷、嗓子疼、头疼等症状。因此开发一种减少身体危害的试验方法很有必要。

全自动固相萃取仪是一套能够在无人值守的情况下自动化运行固相萃取的仪器,包括固相萃取的活化、上样、清洗、洗脱步骤以及样品的切换。目前将全自动固相萃取仪与气相色谱-三重四级杆质谱联用的报道^[10-12]较少。本试验使用全自动固相萃取-定量浓缩前处理平台测定蔬菜中的有机磷和菊酯类农药残留,大大简化繁琐的样品前处理流程,降低实验室工作量,提高工作效率,保证结果的平行性和准确性。系统的密闭性及溶剂回收功能,也可保护操作人员免受有毒有害物质的危害,同时试验具有较高的回收率,能够完全满足农残测定试验需求。

1 材料与方 法

1.1 主要仪器与试剂

Agilent 7890A/7000b GC/MS 三重四级杆气相色谱-串联质谱仪(配 7693 系列自动进样器,美国 Agilent)、Sepline-4 全自动固相萃取仪(配全自动凝胶渗透系统,美国莱伯泰科)、振荡器。

净化柱: CARB/NH₂ 固相萃取柱(500 mg, 6 ml);乙腈、丙酮、二氯甲烷、正己烷、乙酸乙酯均为色谱纯;农药标准品均购自中国计量科学研究院(100.0 μg/ml);无水硫酸钠(500 °C 烘烤 4 h 后使用)。

1.2 方 法

1.2.1 标准溶液的配制

混合标准溶液:准确吸取 100.0 mg/L 的各标准储备液适量,用丙酮定容,冰箱中 4 °C 保存。临用前逐级稀释成 1.0 mg/L 的混合标准使用液。

内标溶液:选环氧七氯作为内标,将 1.0 ml 的环氧七氯全部转移至 50 ml 容量瓶中,用丙酮定容,浓度为 2.0 mg/L。

基质空白标准溶液:将经过测定不含有待测农药的西兰花作为空白样品,用其提取液来配制标准曲线。准确吸取适量混合标准使用液,各加内标溶液 100 μl,用空白样品基质配制浓度分别为 0.05、0.10、0.20、0.40、0.80 mg/L 的基质标准使用液。

1.2.2 样品前处理

采自超市、农贸市场的蔬菜样品(菜心、芹菜、豇豆、四季豆、白花菜、西兰花、番茄、茄子、苦瓜、黄瓜),共 110 份。去掉不可食部分,切成 0.5 cm 见方小块备用。称取 5 g 新鲜样品,用无水硫酸钠研磨至干粉状,倒入具塞锥形瓶中,加配好的内标溶液

100 μl,加 30 ml 提取溶剂(丙酮-二氯甲烷, V/V = 1:1),涡旋 1 min 后振荡 0.5 h。过滤,在漏斗中的滤纸上加少量无水硫酸钠,确保滤液中不含水。剩余残渣每次加 10 ml 提取溶剂,重复提取 2 次,确保目标物全部洗出,然后合并滤液。

1.2.3 全自动固相萃取净化

将得到的提取液进行定时预浓缩,45 °C 减压氮吹使提取液体积约为 7 ml 再进行过柱,可以缩短整个萃取净化的时间。由于浓缩终点的判断是通过红外线照射目标位置来实现,因此在此过程中需将浓缩杯淋洗 2 次,将杯壁上附着的东西清洗掉,以免影响浓缩终点的判断。具体的浓缩参数见表 1。

表 1 浓缩参数

Table 1 Concentration parameter

参数	数值	参数	数值	参数	数值
加热温度	45 °C	进样体积	25 ml	浓缩时间	6 min
单次淋洗	10 s	淋洗间隔	5 min	淋洗时长	10 min
清洗次数	1 次	清洗时间	10 s	吹干时间	1 min

固相萃取步骤:活化:吸取 5 ml 丙酮-二氯甲烷(1:1, V/V)以 5 ml/min 的流速过柱;上样:吸取上样液 7 ml 以 5 ml/min 的流速过柱;洗脱:吸取 10 ml 丙酮-二氯甲烷(1:1, V/V)淋洗,氮吹 30 s;过完柱的溶液会通过管路自动进入浓缩装置,减压氮吹至近干,加 1 ml 丙酮-二氯甲烷(1:1, V/V)溶解,收集到进样小瓶中。将自动固相萃取仪程序设定好并运行。

1.2.4 仪器条件

色谱柱:DB-5 MS 毛细管柱(30 m × 250 μm, 0.25 μm)。柱温:升温程序为 120 °C 保持 2 min,以 15 °C/min 升至 320 °C 保持 5 min。载气:氦气,纯度 ≥ 99.999%,流速 1.0 ml/min。进样口温度 250 °C,进样方式:不分流,进样量 1 μl。采用电子轰击离子源(EI),电子能量 70 eV,离子源温度 300 °C。

2 结果与分析

2.1 提取溶剂的优化

试验中比较了常用的提取溶剂丙酮-二氯甲烷(1:1, V/V)^[13]、乙酸乙酯-正己烷(1:1, V/V)^[14]、乙酸乙酯^[15]和乙腈^[12],分别命名为组 1、2、3、4。从提取后的样品颜色来看,组 1 提取后的颜色最深,组 2 和组 3 的颜色相似,组 4 最浅;从加标回收试验来看,组 1 的回收率最高,组 2 和组 3 接近,回收率居中,组 4 最低。因此,本试验选用组 1 的丙酮-二氯甲烷(1:1, V/V)作为提取溶剂。该组合的优势在于提取效率高,且沸点较低,后续的浓缩用

时短。

2.2 仪器条件优化

通过对色谱条件的优化,得出最佳的分离效

果。除了乙酰甲胺磷有拖尾现象,其他目标物的峰型都很理想。整个分析过程为 20.5 min,总离子流图见图 1。

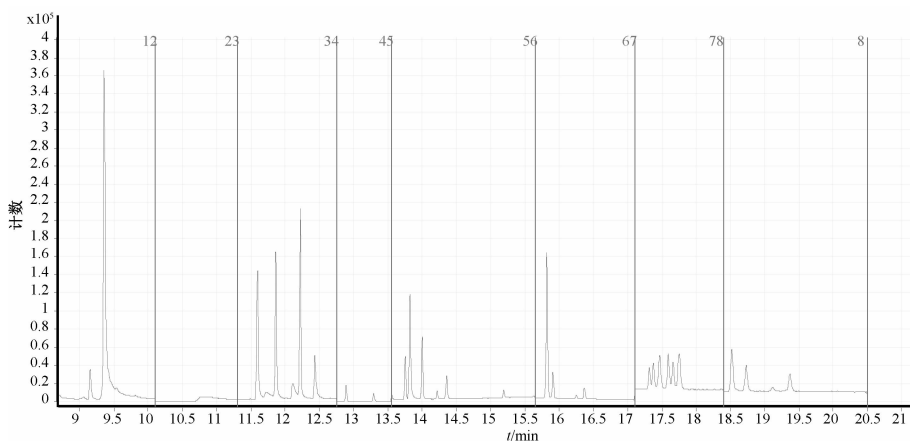


图 1 混合农药标准(0.1 µg/ml)的 GC-MS/MS 总离子流图

Figure 1 Total ion chromatogram of mixed pesticide standard (0.1 µg/ml)

对所有化合物进行全扫描,得到保留时间和母离子,再通过产物离子扫描,优化出子离子和碰撞能量,然后依照条件建立多反应监测(MRM)方法。

2.3 方法的线性方程和检出限

以峰面积 y 对质量浓度 x ($\mu\text{g/L}$) 作图,23 种农药的线性方程见表 2。在农药含量为 0.05 ~ 0.80 mg/L 时,峰面积与各农药的质量浓度呈良好的线性关系,相关系数在 0.993 3 ~ 0.999 9 之间。方法检出限按 3 倍信噪比计算(S/N 可由仪器上的工作站分析获得)得出浓度值,再乘以样品最终的定容体积(1 ml)后除以样品的取样量(5 g)。方法检出限为 0.02 ~ 0.70 $\mu\text{g/kg}$,详见表 2。

2.4 方法的精密度和准确度

将低浓度的混合农药标准溶液连续测定 10 次,计算出相对标准偏差, RSD 在 0.32% ~ 1.60% 之间,见表 3。选取空白蔬菜样品,分别添加 0.10 和 0.40 mg/L 的混合农药标准使用液,每个浓度做 3 个平行样,计算出的平均回收率见表 3。在当前仪器条件下,重现性好,回收率在 75.0% ~ 105.5% 之间,符合要求。表明所建的方法准确可靠,可满足蔬菜中 23 种农药检测的分析要求。

2.5 实际样品分析

利用所建立的方法对广州市 11 个区的 110 份蔬菜样品进行分析测定,每个区的样品种类均一致,为菜心、芹菜、豇豆、四季豆、白花菜、西兰花、番茄、茄子、苦瓜、黄瓜。其中阳性样品 3 份,谱图见图 2-a、b、c。检出的农药分别是四季豆中的氯氟氰菊酯,浓度为 0.057 mg/kg;菜心中的氯氟氰菊酯,浓度为 2.96 mg/kg;苦瓜中的氯氟氰菊酯,浓

表 2 23 种农药的标准曲线、相关系数和检出限

Table 2 Linear curve, correlation coefficient and LODs of 23 pesticides

农药名称	线性方程	r^2	检出限 / ($\mu\text{g/kg}$)
敌敌畏	$y = 19.72x + 1.671$	0.998 8	0.07
乙酰甲胺磷	$y = 12.71x - 13.57$	0.996 6	0.60
氧化乐果	$y = 2.364x - 0.6658$	0.998 0	0.50
灭线磷	$y = 14.95x - 6.329$	0.999 6	0.05
久效磷	$y = 2.625x - 1.758$	0.999 0	0.20
甲拌磷	$y = 19.47x - 7.592$	0.998 1	0.06
乐果	$y = 5.393x - 1.745$	0.997 6	0.11
氯唑磷	$y = 0.6357x - 0.1128$	0.999 9	0.05
甲基对硫磷	$y = 0.8865x - 0.5058$	0.996 0	0.04
毒死蜱	$y = 2.899x - 0.6710$	0.997 4	0.11
对硫磷	$y = 0.5780x - 0.4595$	0.994 4	0.04
三氯杀螨醇	$y = 7.691x - 3.958$	0.998 9	0.02
水胺硫磷	$y = 0.9580x + 0.1265$	0.998 9	0.40
甲基异柳磷	$y = 5.952x - 3.350$	0.998 0	0.04
杀扑磷	$y = 3.756x - 3.267$	0.993 9	0.04
三唑磷	$y = 0.5604x - 0.5455$	0.994 8	0.06
联苯菊酯	$y = 12.53x - 9.400$	0.995 4	0.02
甲氧菊酯	$y = 2.288x - 1.770$	0.997 2	0.07
氯氟氰菊酯	$y = 0.6213x - 0.4570$	0.999 0	0.30
氟氯氰菊酯	$y = 6.250x - 5.543$	0.993 3	0.70
氯氰菊酯	$y = 5.675x - 7.530$	0.995 5	0.50
氰戊菊酯	$y = 6.600x - 8.135$	0.996 2	0.20
溴氰菊酯	$y = 2.994x - 2.940$	0.996 9	0.50

度为 0.064 mg/kg。

表3 目标化合物的保留时间、质谱参数和回收率、精密度($n=3$)
Table 3 Retention times, mass-spectrometry parameters, recoveries and RSD of target compounds

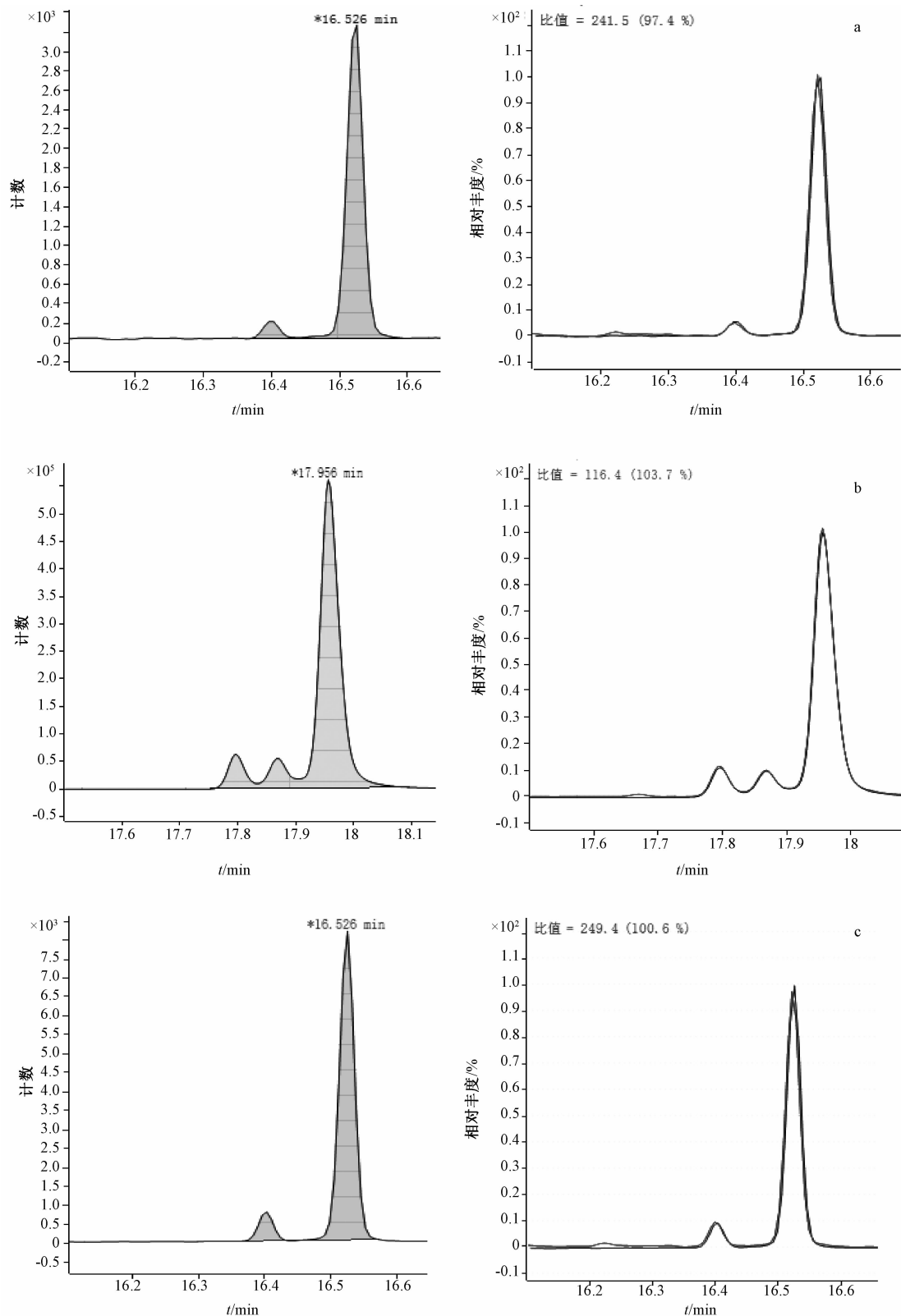
名称	保留时间/min	离子对(碰撞能量/eV)	RSD/%	加标平均回收率/%
敌敌畏	9.471	185→93(10) * 109→79(5)	0.67	75.0
乙酰甲胺磷	10.70	* 136→94(10) 136→42(10)	0.87	89.6
氧化乐果	11.852	156→110(10) * 156→79(20)	1.50	95.3
灭线磷	11.866	* 158→114(5) 158→97(15)	0.52	84.9
久效磷	12.259	* 127→109(15) 127→95(10)	0.57	98.5
甲拌磷	12.353	* 121→93(5) 121→65(10)	0.41	80.8
乐果	12.576	* 93→63(10) 125→79(5)	0.52	92.3
氯唑磷	13.018	* 162→120(10) 119→76(15)	1.00	83.0
甲基对硫磷	13.305	263→109(10) * 125→79(5)	0.32	94.0
毒死蜱	13.757	197→169(15) * 197→107(40)	0.87	79.6
对硫磷	13.770	139→109(5) * 109→81(10)	0.48	95.9
三氯杀螨醇	13.820	139→111(15) * 139→75(30)	0.56	98.0
水胺硫磷	13.960	* 136→108(15) 121→65(15)	1.30	99.8
甲基异柳磷	14.002	* 241→199(10) 199→121(10)	0.51	98.6
杀扑磷	14.495	145→85(5) * 96→63(10)	0.71	101.9
三唑磷	15.196	* 161→134(5) 161→106(15)	0.47	103.0
联苯菊酯	15.829	* 181→166(10) 181→165(30)	0.44	101.4
甲氰菊酯	15.900	181→152(25) * 97→55(10)	0.81	101.8
氯氟氰菊酯	16.372	208→181(5) * 181→152(30)	1.20	97.0
氟氯氰菊酯	17.468	163→127(5) * 163→91(15)	1.60	101.4
氯氰菊酯	17.700	163→127(5) * 163→91(15)	1.40	105.5
氰戊菊酯	18.730	167→125(25) * 125→89(35)	1.40	102.7
溴氰菊酯	19.370	181→152(35) * 253→93(40)	1.10	100.8

注: * 为定性离子;RSD/(10次)

3 小结

本试验利用气相色谱-三重四级杆串联质谱结

合全自动固相萃取仪,建立了对实验人员更好的测定蔬菜中多种农残的方法,种类涵盖有机磷、氨基甲酸酯类农药。试验使用了基质校准曲线和多反



注:a为四季豆中的氯氟氰菊酯;b为菜心中的氯氟氰菊酯;c为苦瓜中的氯氟氰菊酯;左侧为定量离子图谱,右侧为定性离子图谱

图2 四季豆、菜心、苦瓜中的氯氟氰菊酯

Figure 2 Chlorine fluoride in the kidney bean, Chinese flowering cabbage and balsam pear

应监测(MRM)模式,降低了基质效应,提高了分析灵敏度,试验结果理想。国标 GB/T 5009.218—2008《水果和蔬菜中多种农药残留量的测定》^[16]中的样品前处理过程复杂,试剂消耗大,处理时间久。

而本方法简便、省时,解放了劳动力的同时通过夜间运行增大了工作完成量。并且本试验的方法较之国标方法的检出限更低,因此可适用于风险监测中的农药残留痕量监测。

参考文献

- [1] 陆英洲, 陆德胜. 固相萃取-气相色谱法检测食品中农药残留方法的研究[J]. 中国卫生检验杂志, 2011, 21(9): 2185-2186.
- [2] 张茂升, 龚丽芬, 余彬彬, 等. 超声提取-超声波辅助固相萃取色谱法测定蔬菜中的有机氯、菊酯类农药残留量[J]. 分析试验室, 2008, 27(4): 25-28.
- [3] 欧阳运富, 唐宏兵, 吴英, 等. 加速溶剂萃取-在线凝胶渗透色谱-气相色谱-质谱联用法快速测定蔬菜和水果中多农药残留[J]. 色谱, 2012, 30(7): 654-659.
- [4] 钱宗耀, 华震宇, 周晓龙, 等. 顶空固相萃取-气相色谱-质谱法测定蔬菜及水果中15种农药残留量[J]. 理化检验(化学分册), 2014, 50(8): 949-953.
- [5] 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(6): 602-612.
- [6] 洪蔚萍, 陈枝华, 杨忠强. 气相色谱法同时检测蔬菜中多种有机磷、拟除虫菊酯类农药残留[J]. 色谱, 2004, 22(3): 289.
- [7] 吕冰, 朱盼, 李荷丽, 等. QuEChERS-气相色谱-质谱法测定土豆中109种农药残留[J]. 中国食品卫生杂志, 2014, 26(3): 238-244.
- [8] 董振霖, 杨春光, 薛大方, 等. 气相色谱-质谱法测定植物源性食品中残留的联苯菊酯[J]. 色谱, 2009, 27(1): 82-85.
- [9] 巩丽萍, 石峰, 姜树银, 等. 基质分散固相萃取-超高效液相色谱-串联质谱法测定蔬菜风险监测中的9种农药残留[J]. 色谱, 2015, 33(4): 408-412.
- [10] 蔡曦, 钟良康, 坚强, 等. 全自动固相萃取/气相色谱质谱法快速测定蔬果中农药残留[J]. 中国卫生检验杂志, 2011, 21(4): 810-811.
- [11] 李俊玲. 全自动固相萃取-三重串联四级杆气相色谱/质谱联用测定食用菌中49种农药残留[J]. 中国卫生检验杂志, 2014, 24(8): 1068-1072.
- [12] 李俊玲. 全自动固相萃取-气相色谱/串联质谱法测定蔬菜和茶叶中49种农药残留[J]. 现代预防医学, 2014, 41(9): 1662-1666.
- [13] 胡贞贞, 宋伟华, 谢丽萍, 等. 加速溶剂萃取/凝胶渗透色谱-固相萃取净化/气相色谱-质谱法测定茶叶中残留的33种农药[J]. 色谱, 2008, 26(1): 22-28.
- [14] 王兴宁, 蔡秋, 朱明, 等. 凝胶渗透色谱-固相萃取净化-气相色谱-串联质谱法测定茶叶中33种农药的残留量[J]. 理化检验(化学分册), 2011, 47(4): 412-416.
- [15] 于胜良, 杨桂朋, 付萌. 凝胶渗透色谱净化-气相色谱/串联质谱分析蘑菇中的36种农药残留[J]. 色谱, 2007, 25(4): 581-585.
- [16] 中华人民共和国卫生部, 中国国家标准化管理委员会. GB/T 5009.218—2008 水果和蔬菜中多种农药残留量的测定[S]. 北京: 中国标准出版社, 2008.

实验技术与方法

连续流动注射分析法测定白酒中氰化物

姜汉硕, 赵婉婧, 蒋莹

(辽宁省疾病预防控制中心, 辽宁 沈阳 110005)

摘要:目的 建立采用连续流动注射分析仪测定白酒中氰化物的方法。方法 白酒样品用2 g/L NaOH碱解, 在优化的试验条件下, 用LACHAT QC8500连续流动注射分析仪直接测定氰化物的浓度。结果 方法有效降低了白酒中基质对检测结果的干扰, 提高了测定的准确性和灵敏度。在0.50~500 μg/L浓度范围内具有良好的线性关系, 相关系数为0.999 9, 最低检出限为0.17 μg/L, 加标回收率为87.3%~97.9%, 相对标准偏差为2.2%~3.7%。结论 方法操作简便快速、灵敏度高、结果准确, 可满足测定各种白酒中氰化物的要求。

关键词:连续流动注射分析; 氰化物; 白酒; 食品污染物; 食品安全

中图分类号: R155 文献标志码: A 文章编号: 1004-8456(2016)04-0476-04

DOI: 10.13590/j.cjfh.2016.04.014

The method for determination of cyanide in liquor by flow injection analysis

JIANG Han-shuo, ZHAO Wan-jing, JIANG Ying

(Liaoning Center for Disease Prevention and Control, Liaoning Shenyang 110005, China)

Abstract: Objective To establish a method of rapid, sensitive, and accurate flow injection analysis (FIA) for the determination of cyanide in liquor. **Methods** After the sample being alkaline hydrolyzed by 2 g/L NaOH, the cyanide in liquor was determined directly by LACHAT QC8500 FIA under the optimized conditions. **Results** The matrix