

## 实验技术与方法

## 超高效液相色谱-高分辨质谱法测定牛奶中新烟碱类农药残留

赵妍<sup>1</sup>, 杨军<sup>1</sup>, 辛少鲲<sup>2</sup>, 陈达炜<sup>2</sup>

(1.南京市食品药品监督检验院,江苏南京 211198; 2.国家食品安全风险评估中心,北京 100021)

**摘要:**目的 建立牛奶中7种新烟碱类农药残留的超高效液相色谱-高分辨质谱痕量检测方法。方法 样品基于乙腈-水的冷冻诱导液液萃取(LLE)和分散固相萃取(DSPE)提取、富集和净化后,采用乙腈-水作为流动相,梯度洗脱,HSS T3色谱柱(2.1 mm×100 mm, 1.8 μm)分离,高分辨质谱靶向单一离子监测模式测定,内标法定量。结果 在一定的浓度范围内,7种新烟碱类农药呈良好的线性关系( $R^2>0.999$ );方法检出限为3~7 ng/L,定量限为8~20 ng/L。牛奶中20、100、1 000 ng/L三种加标水平的平均回收率在89.4%~105.7%之间,日内精密性( $RSD_r$ )在0.8%~6.4%之间,日间精密性( $RSD_R$ )在11.0%以下。结论 该方法基于冷冻诱导LLE和DSPE净化技术,实现提取、富集和净化的一步式样品前处理,简单快速、成本较低,方法灵敏度高、重现性好,可应用于牛奶中新烟碱类农药残留的痕量检测。

**关键词:**新烟碱类农药;牛奶;冷冻诱导液液萃取;分散固相萃取;超高效液相色谱-高分辨质谱

中图分类号:R155 文献标识码:A 文章编号:1004-8456(2020)02-0139-07

DOI:10.13590/j.cjfh.2020.02.006

### Determination of neonicotinoid residues in milk by ultra-high performance liquid chromatography-high resolution mass spectrometry

ZHAO Yan<sup>1</sup>, YANG Jun<sup>1</sup>, XIN Shaokun<sup>2</sup>, CHEN Dawei<sup>2</sup>

(1. Nanjing Institute for Food and Drug Control, Jiangsu Nanjing 211198, China;

2. China National Center for Food Safety Risk Assessment, Beijing 100021, China)

**Abstract: Objective** To develop an analytical method for determination of seven trace neonicotinoid pesticides in milk by using ultra-high performance liquid chromatography-high resolution mass spectrometry. **Methods** The samples were extracted, enriched and cleaned up using acetonitrile-water based on cold-induced liquid-liquid extraction (LLE) and dispersive solid-phase extraction (DSPE) method. The chromatographic separation of analytes was conducted on an HSS T3 column (2.1 mm×100 mm, 1.8 μm) using acetonitrile-water system as the mobile phase with gradient elution. The analytes were detected by high resolution mass spectrometry using target single ion monitoring mode and the internal standard method was used as the quantitative analysis. **Results** Seven neonicotinoid pesticides showed a good linearity in a certain concentration range with relative coefficient of  $R^2>0.999$ . Limits of detection (LODs) were in the range of 3-7 ng/L, and limits of quantitation (LOQs) were between 8 and 20 ng/L. At the spiked levels of 20, 100, 1 000 ng/L, the average recoveries of analytes in milk were between 89.4%-105.7%, with the intra-day precision ( $RSD_r$ ) of 0.8%-6.4% and the inter-day precision ( $RSD_R$ ) less than 11.0%. **Conclusion** Cold-induced LLE and DSPE method allows one-step sample preparation. This method demonstrates a rapid, simple and low-cost pretreatment with high sensitivity and good reproducibility, which is suitable for trace analysis of neonicotinoid pesticides in milk.

**Key words:** Neonicotinoid pesticides; milk; cold-induced liquid-liquid extraction; dispersive solid-phase extraction; ultra-high performance liquid chromatography-high resolution mass spectrometry

新烟碱类农药是一类具有与尼古丁相似化学性质的神经活性杀虫剂。与有机磷和氨基甲酸酯

类等杀虫剂比较,新烟碱类农药对哺乳动物的毒性远小于昆虫,因此,新烟碱类农药已经成为国内外最常使用的农业杀虫剂<sup>[1]</sup>。近年来的一系列研究发现,新烟碱类农药的普遍使用对生态环境及非靶标无脊椎动物和脊椎动物产生一定的影响,包括蜜蜂群落的损失<sup>[2-3]</sup>、鸟类迁徙能力的损害<sup>[4]</sup>以及环境水的广泛污染对水生无脊椎动物造成的威胁等<sup>[5]</sup>。

收稿日期:2020-03-16

基金项目:国家重点研发计划(2018YFC1602402)

作者简介:赵妍 女 工程师 研究方向为食品化学检测技术

E-mail:519524056@qq.com

通信作者:陈达炜 男 研究员 研究方向为食品化学检验技术

E-mail:chendw@cfsa.net.cn

2018年,欧盟基于其对蜜蜂的潜在危害,禁止三种新烟碱类农药在户外作物上使用<sup>[6]</sup>。此外,近年来有文章论述了新烟碱类农药对人体健康的影响<sup>[7-9]</sup>。

利用液相色谱-质谱(LC-MS)法检测不同样品基质中新烟碱类农药已有相关文献的报道<sup>[10-17]</sup>。然而,以往的研究主要集中在水、土壤等环境样品和蜂蜜、茶叶、蔬菜和水果等食品基质。由于牛奶样品中新烟碱类农药的残留往往属于超痕量水平,且因其高水性和高脂质特点,对新烟碱类农药的超痕量分析更具挑战性,故分析方法鲜有报道,因此,提高对牛奶样品中新烟碱类农药分析的灵敏度和有效的净化方法实属必要。

乙腈-水混合物的冷冻诱导液液萃取(liquid-liquid extraction, LLE)是一种物理化学现象,早期应用于从高比例乙腈中分离蛋白质<sup>[18]</sup>。CHUNG等<sup>[19]</sup>在此基础上开发了牛奶、鸡蛋和肉类中的多残留兽药分析方法;SHAO等<sup>[20]</sup>也将此技术应用于鱼类样品中某些化合物的相分离。与QuEChERS法中广泛应用的盐析辅助的乙腈-水相分离比较,冷冻诱导LLE不需要使用任何盐,可以降低盐的成本,避免新杂质的加入。且其最大的优点是牛奶样品中脂质沉积在水相和乙腈相之间,而分析物可以在乙腈相中富集。利用该技术,只需调整样品提取液中乙腈的比例,即可对牛奶样品中的新烟碱类农药进行一步式的样品净化和富集。此外,本试验在冷冻诱导LLE净化富集的基础上,进一步结合分散固相萃取(dispersive solid-phase extraction, DSPE)净化以降低样品基质效应,获取更好的净化效果。通过本试验建立一套超灵敏、高效的净化分析方法,解决牛奶样品基质复杂、新烟碱类农药超痕量残留等问题,同时定量分析牛奶样品中的新烟碱类农药的污染水平,了解我国新烟碱类农药的使用情况。

## 1 材料与amp;方法

### 1.1 主要仪器与试剂

超高效液相色谱-高分辨质谱联用仪(Q Exactive, 美国赛默飞), 涡旋混合器, 离心机。

7种新烟碱类农药: 噻虫嗪(153719-23-4, THI)、噻虫胺(210880-92-5, CLO)、吡虫啉(138261-41-3, IMI)、脱甲基啶虫脒(190604-92-3, DE-ACE)、氯噻啉(105843-36-5, IMID)、啶虫脒(135410-20-7, ACE)和THIA(111988-49-9, THIA)标准品(纯度>98%)均购自德国Dr. Ehrenstorfer; 3种同位素内标: 噻虫嗪-d<sub>3</sub>(1294048-82-0, THI-d<sub>3</sub>)、噻虫胺-d<sub>3</sub>(1262776-24-8, CLO-d<sub>3</sub>)和吡虫啉-d<sub>4</sub>(1015855-75-0, IMI-d<sub>4</sub>)均购自加拿大TRC; 乙腈(质谱级), 甲酸

和甲酸铵均为色谱级, 其他使用的试剂均为分析纯; DSPE净化管[250 mg无水硫酸镁、50 mg C18和50 mg N-丙基乙二胺(PSA)粉末, 2 ml]购自岛津(上海)实验器材有限公司。试验用水由美国Millipore纯水仪制备。牛奶样品采购于超市和农贸市场。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 标准溶液的配制

分别准确称取各标准品和同位素内标适量(精确至0.0001 g)于不同的容量瓶中, 用乙腈溶解并定容, 配制成100或1000 mg/L的标准储备液, 于-20℃储存。7种新烟碱类农药混合标准中间液(10 mg/L)和混合标准使用液(10、100和1000 mg/L)用乙腈逐级稀释标准储备液制备而成。3种同位素内标混合标准中间液(10 mg/L)和同位素内标混合使用液(100 μg/L)用乙腈逐级稀释同位素内标储备液制备而成。通过准确吸取7种新烟碱类农药标准混合使用液适量及同位素内标混合使用液50 μl于10 ml容量瓶中, 用乙腈定容, 即得10、20、50、100、200、500、1000、2000、5000和10000 ng/L浓度范围的系列标准工作液, 内标浓度为500 ng/L, 临用现配。

#### 1.2.2 样品制备

准确移取牛奶样品8.0 ml, 置于15 ml离心管中, 加入50 μl内标混合使用液, 涡旋混合30 s, 加入5 ml乙腈混匀, 置-20℃冰箱冷冻处理1 h诱导两相分层后, 移取乙腈上清液转移至2 ml的DSPE净化管(装有250 mg无水硫酸镁、50 mg C18和50 mg PSA粉末), 涡旋混匀, 13000 r/min离心5 min, 转移上清液于进样小瓶, 待测定。

#### 1.2.3 仪器条件

色谱: HSS T3 色谱柱(2.1 mm × 100 mm, 1.8 μm), 柱温40℃, 流动相为乙腈(A)-水(B)体系, 两相中均含有0.1%甲酸和5 mmol/L甲酸铵, 梯度洗脱, 流速0.3 ml/min。梯度洗脱程序: 0~2 min, 2%~30% A; 2~4 min, 30% A; 4~9 min, 40%~50% A; 9~12 min, 50%~100% A; 12~13 min, 100% A; 13~13.5 min, 100%~2% A; 13.5~16 min, 2% A。进样体积5 μl。

质谱: 采用电喷雾电离方式, 喷雾电压3.5 kV; 毛细管温度320℃; 加热温度350℃; 鞘气压力40 arb(413.6 kPa), 辅助气压力10 arb(103.4 kPa); 采集模式为tSIM/ddMS<sup>2</sup>, 正离子扫描; 分辨率为70000 FWHM, 自动增益控制(AGC)为2 × 10<sup>5</sup>, Maximum IT为50 ms, 多重累积(MSX)为4, Isolation window为2 Da; ddMS<sup>2</sup>采集分辨率为17500 FWHM, Loop Count为1, TopN为5, 碰撞裂解能量(NCE)为15%、35%和55%。7种新烟碱类

农药的定量母离子和 2 个定性子离子信息见表 1。

表 1 新烟碱类农药的保留时间、母离子和碎片离子信息  
Table 1 Retention time and information for precursor and fragment ions of neonicotinoids

分析物	保留时间/min	母离子/( $m/z$ )	碎片离子/( $m/z$ )
CLO	6.50	250.016 5	169.054 2, 131.966 9
ACE	7.58	223.075 0	126.010 5, 56.049 5
DE-ACE	7.45	209.059 4	90.033 9, 126.010 5
IMID	6.98	262.016 5	181.059 9, 131.966 9
IMI	6.40	256.060 1	209.058 9, 175.097 8
THI	4.99	292.027 1	211.064 8, 181.054 3
THIA	8.78	253.031 5	126.010 5, 186.013 9
THI-d3	4.98	295.045 8	214.083 4, 131.966 8
CLO-d3	6.48	253.035 3	131.966 8, 172.072 8
IMI-d4	6.39	260.085 1	213.083 8, 179.122 7

## 2 结果与分析

### 2.1 质谱采集模式的选择

本试验比较了高分辨质谱技术中的全扫描采集 (full scan, FS) 和靶向单一离子监测采集 (target single ion monitoring, tSIM) 的定量检测模式。FS 和 tSIM 采集模式均是以分析物的精确母离子信息进

行定量。前期的研究已发现,由于 tSIM 采集模式是在更窄的质量采集范围内采集数据,避免了干扰物的采集,进而获取更低的背景噪音<sup>[15]</sup>。本试验比较了 THI 和 THIA 在 50 ng/L 浓度下两种模式的谱图效果。从图 1 A 可以明显看出,THI 在 tSIM 模式下具有较好的检测性能,而在 FS 模式下,则无法检测到 THI 信号。同时,由于采用高分辨质谱的精确质量数进行提取,图 1A2 在此提取离子下,也未能观测到噪音背景信号,这说明了 tSIM 较 FS 模式具有更高的检测灵敏度。其次,图 1B 中 THIA 在 FS 模式下虽可以检测到,但其存在信号采集点数缺失,从而无法满足 15 个采集点的定量要求,而在同样条件下 tSIM 具有更多的定量采集点,这说明在低浓度水平下 tSIM 模式具有更好的定量准确度和稳定性。此外,前期的研究也发现 tSIM 模式相较于 FS 模式具有更宽的线性动态范围和更低的相对平均偏差<sup>[17]</sup>。加标牛奶样品定量限水平下的 THI 和 THIA 的提取离子色谱图见图 2。分析目标物的定性通过保留时间和二级质谱碎片进行确证,其中,二级质谱碎片通过 ddMS<sup>2</sup> 采集模式在 15%、35% 和 55% 的三个均一化 NCE 能量下获取,具体分析目标物的保留时间和二级质谱碎片离子信息见表 1。

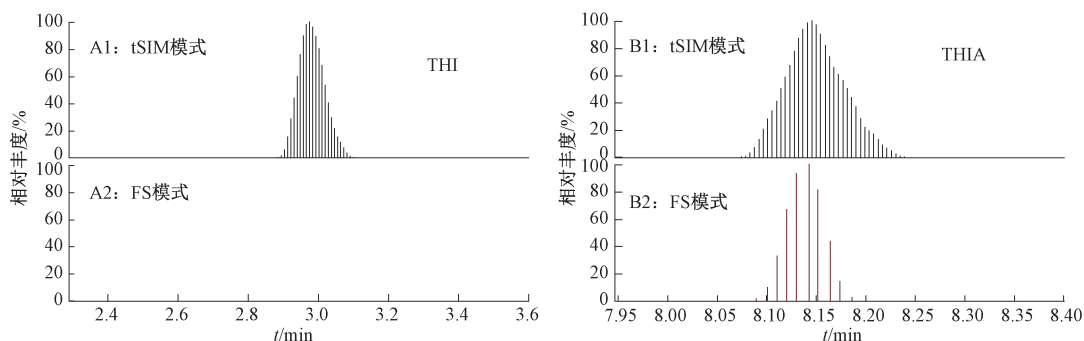


图 1 THI 和 THIA (50 ng/L) 在 tSIM 和 FS 模式下色谱图

Figure 1 Extracted ion chromatograms of thiamethoxam and thiacloprid (50 ng/L) at tSIM and FS modes

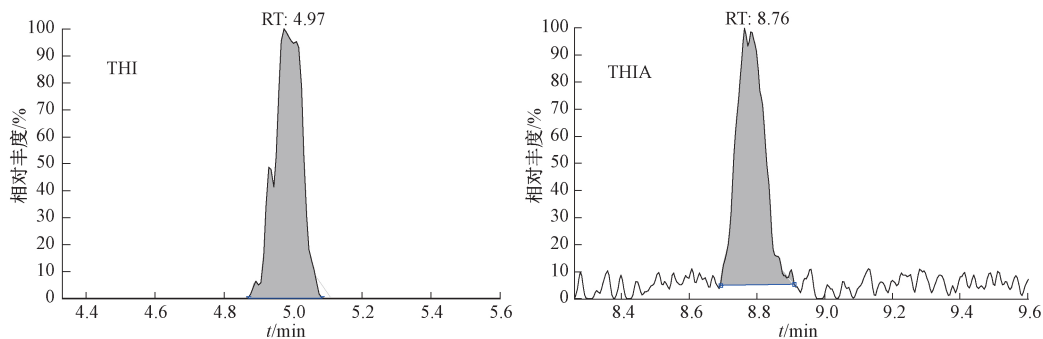


图 2 THI 和 THIA 在加标牛奶样品定量限下提取离子色谱图

Figure 2 Extracted ion chromatograms of thiamethoxam and thiacloprid for the spiked milk at LOQ level

### 2.2 样品前处理方法的选择

文献<sup>[21]</sup>曾报道低温能诱导脂质沉降获得较好

的除脂效果,且乙腈-水混合物在低温下能够诱导相分离。GU 等<sup>[18]</sup>发现乙腈-水混合物在 -20 °C 时发

生相分离,上层(乙腈相)的乙腈浓度为88%,下层(水相)的乙腈浓度为35%,因此,该方法也有助于除去一些高、中极性干扰物。此外,随着乙腈-水比例的降低,乙腈层的体积将逐渐减小,直至没有相分离发生。理论上,富集在乙腈层中的分析物浓度将逐渐增加。然而,值得注意的是,分析物的分配比随上下层体积比的变化而变化,这意味着分析物的富集因子不一定会因乙腈层体积的减少而增加。此外,分析物在乙腈-水混合物中的分配比例主要与水溶性、亲脂性等化学性质有关。

本试验旨在探讨新烟碱类农药在相同浓度下,通过比较不同比例的乙腈-水混合物,以获得新烟碱

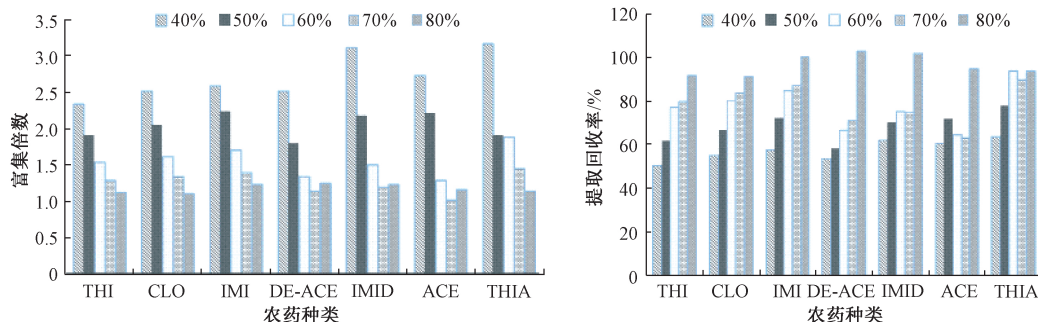


图3 7种新烟碱类农药在不同比例乙腈-水混合物中的富集倍数和绝对提取回收率

Figure 3 Enrichment factor and absolute recovery of seven neonicotinoid pesticides at different proportion of acetonitrile-water mixture

由于牛奶基质较为复杂,脂质含量相对较高,单纯依靠冷冻诱导LLE富集净化,无法对脂质进行较好的去除。本试验进一步采用DSPE净化管(250 mg无水硫酸镁、50 mg C18和50 mg PSA粉末,2 ml)对样品乙腈相进行净化。其中,PSA含有NH<sub>2</sub>等极性官能团,具有弱的阴离子交换作用,能一定程度去除极性成分、有机酸等干扰物;而C18对亲脂性杂质,尤其是脂肪等物质,具有较好的吸附效果。此外,本试验进一步考察了PSA和C18的添加用量(25~200 mg)对新烟碱类农药提取效率的影响。结果发现,PSA和C18的添加不会对新烟碱类农药形成吸附;且发现当添加吸附量达到50 mg时即可获得最佳的提取回收效率,而进一步增加吸附剂填料对净化效果并无明显改善;因此,本试验采用内含50 mg PSA、50 mg C18和250 mg无水硫酸镁的DSPE净化管进行净化。

### 2.3 牛奶取样量的选择

通过上述冷冻诱导LLE的条件优化,乙腈-水混合物的最佳富集和净化比例条件为40%。由于牛奶样品基质的含水量约为90%,这意味着样品取样量的体积越大,仪器灵敏度越高,但也可能导致更大的基质效应。考虑到冷冻诱导LLE法中样品净化的优越性,通过测定3种不同加标牛奶样品中新

类农药的最佳富集倍数。7种新烟碱类农药在40%~80%的乙腈-水混合物中的富集倍数和绝对提取回收率见图3。结果显示,7种新烟碱类农药在40%的乙腈-水混合物比例下获得最佳富集倍数,范围为2.3~3.2之间,且绝对提取回收率均在50%以上。此外,还对冷冻诱导LLE程序中的不同冷冻处理时间(30、45、60和90 min)进行了优化,以获得最佳的相分离平衡。结果表明,当冷冻处理时间大于60 min时,上层乙腈的分配体积没有明显变化,而且随着冷冻处理时间从60 min增加到90 min,新烟碱类农药的富集倍数和提取回收率也没有明显变化,因此本试验的冷冻处理时间为60 min。

烟碱类农药的提取回收率和基质效应,研究了4.0、6.0和8.0 ml的样品取样量体积。通过比较基质匹配标准品和纯溶剂标准品在3种不同浓度下新烟碱类农药的峰面积比来评价基质效应,结果见表2。采用不同样品取样量体积,平均回收率为88.4%~95.6%,无明显差异。此外,随着样品取样量体积的增加,基质效应没有增加,在不同的添加水平下,牛奶中新烟碱类农药的平均基质效应值为0.93~0.98,这意味着使用这种净化方法没有观察到明显的基质效应。本试验中未对更大样品取样量体积进行考察,主要是考虑到以下两个方面:(1)8.0 ml样品取样量下已能获得较高的检测性能,满足现行检测的需要;(2)为保持40%乙腈-水的最佳提取条件,当增加样品取样量,意味着需要增加乙腈的使用量,如当取样量为10.0 ml,需加入乙腈6.0 ml,则不宜使用15 ml离心管,从而增加了操作上的繁琐;因此,本试验采取8.0 ml作为样品取样量体积。

### 2.4 基质效应、线性范围和定量限

为了评价该分析方法的基质效应,分别制备各系列浓度新烟碱类农药的纯溶剂和基质匹配的标准曲线。通过比较基质匹配标准曲线与纯溶剂标准曲线的斜率比值,确定基质效应。其中,考虑到不同牛奶中脂质成分具有一定差异,分别取不同品

表2 检测分析物在不同取样量下的回收率和基质效应( $\bar{x}\pm s$ )

Table 2 Recoveries and matrix effects of analytes at different sample volumes

取样量/ml	加标水平 /(ng/L)	回收率 /%	基质效应
4.0	100	93.4±5.6	0.98±0.01
	500	89.1±6.9	0.96±0.02
	1 000	92.9±5.7	0.96±0.02
6.0	100	88.4±6.3	0.96±0.03
	500	92.5±4.9	0.97±0.01
	1 000	95.6±4.4	0.95±0.01
8.0	100	91.3±3.5	0.96±0.02
	500	92.8±4.7	0.95±0.03
	1 000	90.6±2.4	0.93±0.02

牌的牛奶制备基质匹配的标准曲线( $n=3$ ),以其各

表3 检测分析物的线性、检出限、定量限和基质效应

Table 3 LOD, LOQ, linear formulation and matrix effect of analytes

分析物	对应内标	线性范围 /(ng/L)	线性方程	$R^2$	检出限 /(ng/L)	定量限 /(ng/L)	基质效应 ( $n=3$ )
DE-ACE	IMI-d4	20~10 000	$y=0.00157x+0.00317$	0.999 5	7	20	0.96±0.02
ACE	IMI-d4	20~10 000	$y=0.00147x-0.00356$	0.999 3	4	12	0.94±0.03
CLO	CLO-d3	10~10 000	$y=0.00207x+0.00198$	0.999 9	6	18	0.98±0.02
IMID	IMI-d4	20~10 000	$y=0.00167x-0.00135$	0.999 6	4	12	0.97±0.01
IMI	IMI-d4	10~10 000	$y=0.00192x-0.00196$	0.999 2	6	18	1.03±0.02
THI	THI-d3	20~10 000	$y=0.00187x-0.00097$	0.999 8	3	8	1.01±0.01
THIA	IMI-d4	10~10 000	$y=0.00223x-0.00319$	0.999 6	3	8	0.95±0.03

本试验中,由于使用高分辨质谱分析,部分新烟碱类农药在保留时间附近并未观察到明显的噪声信号,因此,方法检出限(LOD)和定量限(LOQ)的制定是根据参考文献中报道的方法<sup>[22]</sup>,使用以下方程确定:LOD=3 $\sigma$ /s,LOQ=10 $\sigma$ /s,其中 $\sigma$ 定义为空白牛奶最低检测加标浓度水平下目标物响应的标准偏差( $n=6$ ),s是基质匹配标准曲线的斜率。依据此方法,测定本方法牛奶中7种新烟碱类农药的LOD在3~7 ng/L之间,LOQ在8~20 ng/L之间。

## 2.5 准确度和精密度

使用选择空白牛奶作为加标样品,在3个浓度水平(20、100和1 000 ng/L)下,用6个平行操作进行加标回收试验,以评估方法的准确度和精密度。通过对6个重复加标样品进行分析,测定日内精密度( $RSD_r$ )。为了确证日间精密度( $RSD_R$ ),在随后的3 d内对加标样品进行三次 $RSD_R$ 分析。方法的回收率和精密度结果见表4。在牛奶样品中,7种新烟碱类农药在三个加标浓度下的平均回收率在89.4%~105.7%之间, $RSD_r$ 在0.8%~6.4%之间, $RSD_R$ 在11.0%以下,结果显示该方法具有良好的准确度和精密度。

## 2.6 实际样品的测定

采用已建立的方法对市售的58份牛奶样品进

个基质效应的平均值和标准偏差来评估方法净化的效果。结果显示该方法对牛奶样品中的7种新烟碱类农药的平均基质效应为0.94~1.03之间(见表3),各品牌牛奶基质效应的标准偏差也可在接受范围内(0.01~0.03),表明该方法可以应用于实际不同品牌类型牛奶样品的分析,而无需使用基体匹配的标准曲线。为了提高新烟碱类农药的分析准确度,本试验进一步采用同位素稀释技术,内标法对其定量分析。通过制备一套纯溶剂内标校准的标准曲线,以系列新烟碱类农药标准浓度为x轴,新烟碱类农药标准与内标的峰面积比为y轴,绘制标准曲线,结果显示7种新烟碱类农药的相关系数( $R^2$ )均大于0.999,线性关系良好,见表3。

表4 不同添加水平下回收率和精密度

Table 4 Recovery and precision of different spiked levels

分析物	加标水平 /(ng/L)	回收率 /%	$RSD_r$ /% ( $n=6$ )	$RSD_R$ /% ( $n=3$ )
CLO	20	93.8	3.8	9.4
	100	95.9	3.7	7.7
	1 000	97.3	1.6	8.3
ACE	20	89.4	4.3	10.6
	100	97.3	4.9	4.7
	1 000	93.1	3.1	5.0
DE-ACE	20	93.1	6.4	8.9
	100	91.2	2.4	5.8
	1 000	90.8	3.0	7.1
IMID	20	91.8	4.2	6.5
	100	98.2	1.9	7.3
	1 000	103.2	2.5	5.7
IMI	20	93.8	4.3	9.4
	100	99.3	2.8	6.4
	1 000	97.4	3.6	8.0
THI	20	98.2	4.6	7.4
	100	96.3	3.7	5.2
	1 000	102.8	0.8	3.9
THIA	20	96.3	3.2	6.7
	100	94.0	2.6	4.5
	1 000	105.7	3.5	5.2

行7种新烟碱类农药检测,结果显示样品中未检出IMID和THIA,而有2份样品中检出CLO,浓度分别为10.7和118.1 ng/L。其中,DE-ACE和ACE检出率最高,分别为77.6%(45/58)和69.0%(40/58);

DE-ACE 检出含量为 $<LOD \sim 18\ 362.0\ ng/L$ ,平均值为 $691.5\ ng/L$ ,中位数为 $46.5\ ng/L$ ;ACE 检出含量为 $<LOD \sim 11\ 609.0\ ng/L$ ,平均值为 $395.4\ ng/L$ ,中位数为 $17.6\ ng/L$ 。THI 和 IMI 的检出率次之,分别为 $46.6\% (27/58)$ 和 $25.9\% (15/58)$ ;THI 检出含量为 $<LOD \sim 281.5\ ng/L$ ,平均值为 $7.4\ ng/L$ ,中位数为 $<LOD$ ;IMI 检出含量为 $<LOD \sim 546.2\ ng/L$ ,平均值为 $16.0\ ng/L$ ,中位数为 $<LOD$ 。上述结果表明,ACE、THI 和 IMI 是我国最为广泛使用的新烟碱类农药。图4为一份实际牛奶样品中检出的4种新烟碱类农药的色谱图。

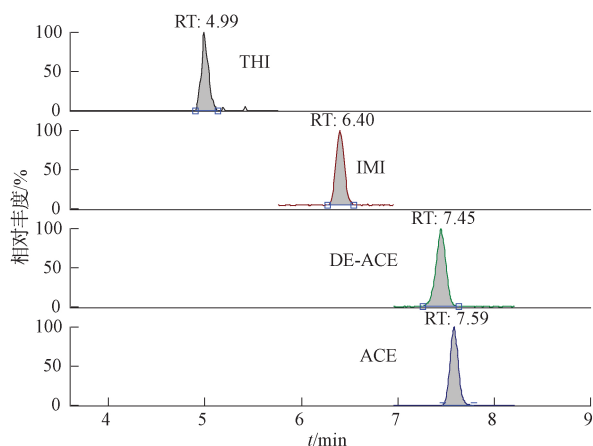


图4 实际牛奶样品中新烟碱类农药的检出色谱图

Figure 4 Chromatograms of neonicotinoids detected in a real milk sample

### 3 小结

本试验基于冷冻诱导LLE和DSPE净化-超高效液相色谱-高分辨质谱检测技术,建立了牛奶中痕量新烟碱类农药残留的分析方法。该方法实现提取、富集和净化的一步式样品前处理,样品前处理时间短,操作简单、成本低、同时净化效果良好,适用于牛奶中7种新烟碱类农药的快速分析测定。应用本试验方法对市售的牛奶样品进行分析检测,发现牛奶样品中普遍能够检测到痕量新烟碱类农药残留,其中,ACE、THI和IMI是我国最为广泛使用的新烟碱类农药。

### 参考文献

[1] ELBERT A, HAAS M, SPRINGER B, et al. Applied aspects of neonicotinoid use in crop protection [J]. *Pest Manage Sci*, 2008, 64(11):1099-1105.

[2] WOODCOCK B A, ISAAC N J B, BULLOCK J M, et al. Impacts of neonicotinoid use on long-term population changes in wild bees in England [J]. *Nat Commun*, 2016, 7:12459.

[3] BARON G L, JANSEN V A A, BROWN M J F, et al. Pesticide reduces bumblebee colony initiation and increases probability of

population extinction [J]. *Nat Ecol Evol*, 2017, 1(9):1308-1316.

- [4] ENG M L, STUTCHBURY B J M, MORRISSEY C A. Imidacloprid and chlorpyrifos insecticides impair migratory ability in a seed-eating songbird [J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1):15176.
- [5] BUTCHERINE P, BENKENDORFF K, KELAHER B, et al. The risk of neonicotinoid exposure to shrimp aquaculture [J]. *Chemosphere*, 2019, 217(10):329-348.
- [6] BUTLER D. Scientists hail European ban on bee-harming pesticides [J]. *Nature*, 2018. DOI: 10.1038/d41586-018-04987-4.
- [7] HAN W C, TIAN Y, SHEN X M. Human exposure to neonicotinoid insecticides and the evaluation of their potential toxicity: an overview [J]. *Chemosphere*, 2018, 192(10):59-65.
- [8] CIMINO A M, BOYLES A L, THAYER K A, et al. Effects of neonicotinoid pesticide exposure on human health: a systematic review [J]. *Environ Health Perspect*, 2017, 125(2):155-162.
- [9] ZHANG Q, LI Z, CHANG C H, et al. Potential human exposures to neonicotinoid insecticides: a review [J]. *Environ Pollut*, 2018, 236(12):71-81.
- [10] SONG S M, ZHANG C F, CHEN Z J, et al. Simultaneous determination of neonicotinoid insecticides and insect growth regulators residues in honey using LC-MS/MS with anion exchanger-disposable pipette extraction [J]. *J Chromatogr A*, 2018, 1557(5):51-61.
- [11] LACHAT L, GLAUSER G. Development and validation of an ultra-sensitive UHPLC-MS/MS method for neonicotinoid analysis in milk [J]. *J Agric Food Chem*, 2018, 66(32):8639-8646.
- [12] ZHOU Y, LU X X, FU X F, et al. Development of a fast and sensitive method for measuring multiple neonicotinoid insecticide residues in soil and the application in parks and residential areas [J]. *Anal Chim Acta*, 2018, 1016(2):19-28.
- [13] HAO C Y, ENG M L, SUN F R, et al. Part-per-trillion LC-MS/MS determination of neonicotinoids in small volumes of songbird plasma [J]. *Sci Total Environ*, 2018, 644(6):1080-1087.
- [14] HOU J B, XIE W, HONG D, et al. Simultaneous determination of ten neonicotinoid insecticides and two metabolites in honey and Royal-jelly by solid-phase extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Food Chem*, 2019, 270(7):204-213.
- [15] 吕冰, 辛少鲲, 陈达炜, 等. 盐析辅助液液萃取交联聚维酮净化-靶向单一离子监测/高分辨质谱法测定蜂蜜中新烟碱类农药残留[J]. *分析测试学报*, 2018, 37(6):639-645.
- [16] 吴洁珊, 林俊燕, 倪清泉, 等. 高效液相色谱-串联质谱法测定中草药中多种新烟碱类农药的残留量[J]. *食品安全质量检测学报*, 2019, 37(12):4004-4008.
- [17] LI S H, CHEN D W, LYU B, et al. Enhanced sensitivity and effective cleanup strategy for analysis of neonicotinoids in complex dietary samples and the application in the Total Diet Study [J]. *J Agric Food Chem*, 2019, 67(9):2732-2740.
- [18] GU T Y, GU Y S, ZHENG Y Z, et al. Phase separation of acetonitrile-water mixture in protein purification [J]. *Sep Technol*, 1994, 4(4):258-260.
- [19] CHUNG S W C, LAM C H. Development of a 15-classes

multiresidue method for analyzing 78 hydrophilic and hydrophobic veterinary drugs in milk, egg and meat by liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Anal Methods*, 2015, 7(16): 6764-6776.

- [20] SHAO G, AGAR J, GIESE R W. Cold-induced aqueous acetonitrile phase separation: a salt-free way to begin quick, easy, cheap, effective, rugged, safe [J]. *J Chromatogr A*, 2017, 1506(5):128-133.

[21] 吕冰, 尹帅星, 陈达炜, 等. QuEChERS-四级杆/静电场轨道阱高分辨质谱测定动物性食品中氟虫腈及其代谢物残留 [J]. *分析测试学报*, 2017, 36(12):1424-1430.

- [22] SHRIVASTAVA A, GUPTA V B. Methods for the determination of limit of detection and limit of quantitation of the analytical methods [J]. *Chronicles of Young Scientists*, 2011, 2(1): 21-25.

## 实验技术与方法

# 溶剂吸收-气相色谱-质谱法测定食用菌中二硫代氨基甲酸酯类农药

李伟, 蒲云霞, 单美娜, 陈志民, 刘宇

(内蒙古综合疾病预防控制中心, 内蒙古 呼和浩特 010031)

**摘要:**目的 建立食用菌中二硫代氨基甲酸酯类农药残留的溶剂吸收-气相色谱-质谱测定方法。方法 样品在氯化亚锡盐酸溶液中加热发生消化反应, 生成二硫化碳, 冷却后用正己烷萃取出二硫化碳, 经 Hp-VOC 色谱柱 (60 m×0.20 mm, 1.12 μm) 分离, 选择离子监测 (SIM) 模式气相色谱-质谱进行检测, 外标标准曲线法定量。结果 食用菌中添加 0.025、0.05、0.25 mg/kg 3 个水平的标准溶液, 回收率的范围为 94.8%~109%, 相对标准偏差为 3.7%~5.5% (n=3)。检出限为 0.01 mg/kg, 定量限为 0.02 mg/kg。结论 该方法具有操作简单、准确度高和精密度好等优点, 可适用于食用菌中二硫代氨基甲酸酯类农药残留的测定。

**关键词:**气相色谱-质谱; 二硫代氨基甲酸酯类; 农药; 食用菌; 溶剂吸收

中图分类号: R155 文献标识码: A 文章编号: 1004-8456(2020)02-0145-05

DOI: 10.13590/j.cjfh.2020.02.007

## Determination of dithiocarbamates pesticide residues in edible fungi by gas chromatography-mass spectrometry with solvent absorption

LI Wei, PU Yunxia, SHAN Meina, CHEN Zhimin, LIU Yu

(Inner Mongolia Comprehensive Center for Disease Control and Prevention, Inner Mongolia Hohhot 010031, China)

**Abstract: Objective** To establish a method for determination of dithiocarbamates (DTCs) pesticide residue in edible fungi by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) with solvent absorption. **Methods** DTCs pesticide residues in samples were decomposed to carbon disulfide (CS<sub>2</sub>) by SnCl<sub>2</sub>-HCl solution under heating condition, the liberated CS<sub>2</sub> was absorbed by hexane and then determined by GC-MS. **Results** Accuracy and precision were assessed by adding CS<sub>2</sub> standard solution in edible fungi at three concentration levels (0.025, 0.05 and 0.25 mg/kg). The average spiked recoveries were in the range of 94.8%-109%. The relative standard deviation of precision was from 3.7%-5.5% (n=3). The limits of detection were 0.01 mg/kg and the limits of quantitation were 0.02 mg/kg. **Conclusion** The method is simple, accurate and reliable. It can be applicable to determination of DTCs pesticide residue in edible fungi.

**Key words:** Gas chromatography-mass spectrometry; dithiocarbamates; pesticide; edible fungi; solvent absorption

19 世纪 30 年代, 农业上用二硫代氨基甲酸酯

类 (dithiocarbamates, DTCs) 农药作为杀菌剂。因其具有广谱、高效、低毒, 对人畜植物安全以及防治病虫害等特点, 被广泛应用于蔬菜、水果、食用菌等多种农作物病虫害的杀菌剂, 世界上每年消耗量达到 3 万多吨, 其中一部分已被世界卫生组织列为有害物质<sup>[1-4]</sup>。DTCs 农药是一种含有二硫基团取代的化

收稿日期: 2020-02-29

作者简介: 李伟 男 副主任技师 研究方向为食品安全风险监控  
E-mail: 444913651@qq.com

通信作者: 陈志民 男 副主任技师 研究方向为食品安全风险监控与评估  
E-mail: haiiang1218@163.com