

QuEChERS-气相色谱-质谱法同时测定 小麦胚中 45 种农药残留

李婷婷¹, 任兴权¹, 周丽¹, 王蓉¹, 霍文清¹, 孙姗姗^{2*}

[1. 酒泉市食品检验检测中心, 酒泉 735000; 2. 中国食品药品检定研究院/国家市场监管重点实验室
(食品质量与安全), 北京 100050]

摘要: **目的** 建立 QuEChERS-气相色谱-质谱法(gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS)同时测定小麦胚中 45 种农药残留的方法。**方法** 通过比较目标化合物特征定量离子的响应值, 选取适宜的复溶溶剂, 并通过比较标准曲线的斜率, 明确所有待测目标化合物的基质效应。采用含有 1%醋酸的乙腈作为溶剂提取样品中的目标农药, 经 QuEChERS 技术净化和溶剂复溶置换后, 使用气相色谱-质谱法在选择离子监测(selected ion monitoring, SIM)模式下测定, 通过空白基质匹配标准溶液内标法定量。**结果** 乙酸乙酯是较为理想的复溶溶剂, 所有待测目标物均表现出不同程度的基质增强效应。45 种目标农药在 0.005~0.500 $\mu\text{g/mL}$ 的质量浓度范围内呈现出较好的线性关系, 相关系数均大于 0.9991; 定量限在 0.0030~0.0075 mg/kg 之间。3 个水平的加标回收率均在 81.54%~111.62%范围内, 相对标准偏差(relative standard deviations, RSDs)在 0.34%~9.84%范围内 ($n=5$)。**结论** 该方法前处理过程简单, 灵敏度好、准确性高、重复性好, 适用于小麦胚片及以其为主要原料的食品中多农药残留的快速筛查和定量检测。

关键词: 气相色谱-质谱法; 小麦胚; 农药残留; 基质效应

Simultaneous determination of 45 kinds of pesticide residues in wheat germ by QuEChERS-gas chromatography-mass spectrometry

LI Ting-Ting¹, REN Xing-Quan¹, ZHOU Li¹, WANG Rong¹, HUO Wen-Qing¹, SUN Shan-Shan^{2*}

(1. Food Test Center of Jiuquan, Jiuquan 735000, China; 2. National Institute for Food and Drug Control, Key Laboratory of Food Quality and Safety for State Market Regulation, Beijing 100050, China)

ABSTRACT: Objective To establish a method for the simultaneous determination of 45 kinds of pesticide residues in wheat germ by QuEChERS-gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). **Methods** By comparing the response values of characteristic quantitative ions of target compounds, the appropriate-soluble solvent was selected, and the matrix effects of all target compounds were determined by comparing the slopes of the standard curves. After extracted with acetonitrile containing 1% acetic acid, purified by the QuEChERS method, redissolved and replaced, 45 kinds of target pesticides were determined by GC-MS under selected ion monitoring (SIM) mode, and quantified by blank matrix matching standard solution with internal standard method. **Results** Acetyl acetate was

基金项目: 酒泉市科技局 2021 年科技计划项目(酒科发[2021]47 号)、甘肃省市场监督管理局科技计划项目(SSCJG-SP-201916)

Fund: Supported by the 2021 Science and Technology Project of Jiuquan Science and Technology Bureau ([2021] NO.47), and the Science and Technology Project of Gansu Market Supervision Administration (SSCJG-SP-201916)

*通信作者: 孙姗姗, 博士, 副研究员, 主要研究方向为食品安全检测、食品的真实性检验及过敏原的鉴定。E-mail: shanshans112@163.com

*Corresponding author: SUN Shan-Shan, Ph.D, Associate Professor, National Institute for Food and Drug Control, No.2, Tiantan West Lane, Chongwen District, Beijing 100050, China. E-mail: shanshans112@163.com

appropriate re-dissolved solvent, all of the target pesticides showed different degree of positive matrix effects. The 45 kinds of pesticides in the concentration range of 0.005–0.500 $\mu\text{g/mL}$ showed good linear relationships, and the correlation coefficients were all greater than 0.9991. The limits of quantitation were 0.0030–0.0075 mg/kg. The recoveries of spiked samples at 3 levels ranged from 81.54% to 111.62%, with the relative standard deviations (RSDs) in the range of 0.34%–9.84% ($n=5$). **Conclusion** The method has the advantages of simple pretreatment process, high sensitivity, high accuracy and easy repetition, which is suitable for the rapid screening and quantitative determination of multiple pesticide residues in wheat germ and food with wheat germ as main raw materials.

KEY WORDS: gas chromatography-mass spectrometry; wheat germ; pesticide residues; matrix effect

0 引言

小麦胚作为面粉加工工业的副产物,富含优质的植物脂肪酸、微量矿物元素及蛋白质肽类等多种营养物质^[1],近年来,其营养成分、功能性成分和生物活性成分的研究受到越来越多的关注^[2-3],以小麦胚为主要原料的食品新产品开发及精深加工在食品行业内也获得新的研究进展^[4-6]。人们在关注食品营养的同时对食品中有害物质的关注度也越来越高,农药残留是其中关注的热点之一^[7-8]。GB 2763—2021《食品安全国家标准 食品中农药最大残留限量》规定了小麦及相关食品(如小麦胚)中 230 余种农药的最大残留限量,涉及到的农药种类主要为杀虫剂、除草剂和杀菌剂 3 大类,限量较多集中于 0.01–0.2 mg/kg 的区间内,因此对前处理方法和测试仪器要求较高。

目前我国现行有效的包含小麦胚在内的粮谷类食品中农药残留的检测方法标准中的前处理手段主要有加速溶剂萃取技术、固相萃取技术、凝胶净化技术和 QuEChERS 技术 4 种^[9],其中 QuEChERS 技术具有快速(quick)、简便(easy)、廉价(cheap)、有效(effective)、可靠(rugged)和安全(safe)等优点^[10],被 GB 23200.113—2018《食品安全国家标准 植物源性食品中 208 种农药及其代谢物残留量的测定 气相色谱-质谱联用法》等标准检测方法采用。

粮谷类食品中农药残留的检测方法标准中主要采用气相色谱法、气相色谱-质谱法(gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS)、气相色谱-串联质谱法(gas chromatography-tandem mass spectrometry, GC-MS/MS)和液相色谱-串联质谱法 4 种。相较于传统的色谱检测方法仅依靠保留时间定性而言,色谱-质谱法采用特征离子定量的模式在多组分农药的快速筛查、定性鉴定和定量分析方面表现出更为突出的优势^[11-13]。由于其是按照农药出峰顺序采用分时间段监测模式,在某一时间段监测一个或几个待测物质,使得特征离子在单位时间内被扫描的次数增多,从而降低背景干扰,提高信噪比^[14],进而获得更低的检出限和定量限,但将其应用于食品中农药残留定量测定时亦不可忽视基质效应对测定结果的影响^[15-17]。作为粮谷类食品中农药残留的标准检测方法,GB 23200.9—2016《食品安

全国家标准 粮谷中 475 种农药及相关化学品残留量的测定 气相色谱-质谱法》在 GB 2763—2021 中被采用的频率较高,但在实际样品检测中存在以下不利因素:首先,在样品处理过程中使用加速溶剂萃取和固相萃取技术,过程较为烦琐且效率较低;测试样品溶液中内标物的质量浓度为 1.4 $\mu\text{g/mL}$,标准工作溶液中待测农药测浓度较多集中于 2.5~105 $\mu\text{g/mL}$ 之间,长期使用易污染质谱仪且造成标准物质浪费;其次,定量限较高,甲基对硫磷、六六六等多种农药的定量限大于或等于 GB 2763—2021 中规定的最大残留限量。构建前处理方法更为简便、检测效率更高且灵敏度更好的 GC-MS 对基层检验检测机构开展粮谷类食品中农药残留的检测和含量监测工作有重要的促进作用,QuEChERS-GC-MS/MS 被应用于大米、玉米等普通谷食品中的农药残留检测^[9,18-19]。较小麦、大米、玉米等普通谷物食品而言,小麦胚中淀粉含量相对较低(17 g/100 g),蛋白质和粗脂肪含量(分别为 30 和 10 g/100 g)相对较高,且小麦胚中金属元素含量也更高^[20],采用 GC-MS/MS 测定小麦胚中农药残留时,会出现净化效果不佳、基质效应增加等问题,目前关于小麦胚中农药残留检测的研究在国内报道较少。因此,开发小麦胚片中有有机磷、拟除虫菊酯及其他农药等多农药残留的检测方法、明确各种农药的基质效应及复溶剂对测定结果的影响对研究小麦胚中农药残留现状有较为积极的现实意义。

在本实验室已有工作基础上,本研究采用 QuEChERS 结合 GC-MS 建立小麦胚片中多种农药残留物的快速筛查及检测方法,为 GB 23200.9—2016 在实际检测工作中的应用改进提供方法学参考,同时为小麦胚及其深加工产品中多农药残留的阳性筛查和定量检测提供帮助。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

小麦胚片由酒泉市双禧面粉有限责任公司提供。

45 种农药标准溶液、内标物环氧七氯 B 标准溶液(100 $\mu\text{g/mL}$,溶剂均为丙酮,天津农业部环境保护科研检测所);乙腈、乙酸乙酯(色谱纯,德国 Meker 公司);丙酮、

甲苯(色谱纯, 南京化学试剂股份有限公司); 十八烷基硅烷键合硅胶(C₁₈)、乙二胺-N-丙基硅烷化硅胶(primary secondary amine, PSA)(粒径均为 40~60 μm, 美国 Agilent 公司); 石墨化碳黑(graphitized carbon black, GCB, 粒径为 40~120 μm; 上海麦克林生化科技有限公司); 乙酸钠、无水硫酸镁(分析纯, 天津市科密欧化学试剂有限公司)。

1.2 仪器与设备

TSQ8000Evo 型气相色谱-质谱仪(美国 Thermo Fisher Scientific 公司); MV5 型高通量平行浓缩仪(北京莱伯泰科仪器股份有限公司); IKA MS3 涡旋混合器(德国 IKA 公司); PL602E/02 型百分之一电子天平[梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司]; TG16 型离心机(上海卢湘仪离心机仪器有限公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 标准溶液制备

混合标准储备液: 分别取 45 种农药标准溶液 0.50 mL 于 25 mL 容量瓶中, 用乙酸乙酯定容, 得到质量浓度为 2.0 μg/mL 的混合标准储备液, 于-18℃冰箱中避光保存。

内标工作液: 取环氧七氯 B 标准溶液 0.25 mL 于 5 mL 容量瓶中, 用乙酸乙酯定容, 得到质量浓度为 5.0 μg/mL 的内标工作液, 于-18℃冰箱中避光保存。

试剂标准工作液: 分别吸取 0.0125、0.0250、0.1250、0.2500、0.6250、1.2500 mL 混合标准储备液于 5 mL 容量瓶中, 分别用乙酸乙酯定容, 配制成质量浓度分别为 0.005、0.010、0.050、0.100、0.250、0.500 μg/mL 的试剂混合标准系列溶液。上机分析前, 每个水平各取 1.0 mL 相应质量浓度的混合标准系列溶液于进样小瓶中, 加入 20 μL 内标工作液, 混匀得到试剂标准工作液, 临用现配。

基质标准工作液: 分别吸取 0.0125、0.0250、0.1250、0.2500、0.6250、1.2500 mL 混合标准储备液于 5 mL 容量瓶中, 用空白基质溶液定容, 配制成质量浓度分别为 0.005、0.010、0.050、0.100、0.250、0.500 μg/mL 的基质混合标准系列溶液。上机分析前, 每个水平各取 1.0 mL 相应质量浓度的基质混合标准系列溶液于进样小瓶中, 加入 20 μL 内标工作液, 混匀得到基质标准工作液, 临用现配。

1.3.2 仪器条件

气相色谱条件: Agilent HP-5 型毛细管色谱柱(30 m×0.25 mm, 0.25 μm); 进样口温度: 280℃; 进样体积: 1.0 μL; 进样方式: 不分流进样; 柱流量: 1.0 mL/min; 载气为高纯氦气(纯度在 99.999%以上); 柱箱升温程序: 40℃保持 1 min, 以 40℃/min 程序升温至 120℃, 再以 5℃/min 程序升温至 240℃, 然后以 12℃/min 程序升温至 300℃, 保持 6 min; 传输线温度: 280℃。

质谱条件: 电子轰击(electron impact, EI)离子源, 离子源温度: 280℃, 传输线温度 280℃, 信号采集使用选择离子监测(selected ion monitoring, SIM)模式, 每种化合物

分别选择 1 个定性离子, 2~3 个定量离子。

1.3.3 样品前处理方法

称取 5.00 g 粉碎后的待测样品于 50 mL 离心管, 加入 10 mL 水涡旋混匀后浸润 30 min, 加入 15.0 mL 体积比为 99:1 的乙腈-醋酸溶液, 2000 r/min 涡旋振荡 5 min, 加入 1 颗陶瓷均质子后再加入 1.5 g 乙酸钠和 3 g 无水硫酸镁, 剧烈振荡 1 min, 4000 r/min 离心 5 min。准确吸取上层有机相 6.0 mL 于 15 mL 离心管中, 并向其中加入 360 mg PSA、360 mg C₁₈ 和 100 mg GCB, 2000 r/min 涡旋振荡 1 min, 4000 r/min 离心 5 min, 取 2.0 mL 净化液于试管中, 40℃下加氮气缓缓吹至近干, 加入 1.0 mL 乙酸乙酯和 20 μL 内标工作液复溶, 过 0.22 μm 有机滤膜, 上机分析。

1.3.4 复溶溶剂比较

分别选用甲苯、丙酮和乙酸乙酯作为溶剂配制质量浓度均为 0.25 μg/mL 的混合标准工作液, 在室温下放置 2 h 后上机分析, 记录目标物定量离子的响应值。

1.3.5 基质效应

在确定的气相色谱和质谱条件下分别对试剂标准工作液和基质标准工作液进行分析, 绘制标准曲线, 将二者的斜率带入公式(1)计算基质效应(matrix effect, ME):

$$ME/\%=(k_m/k_s-1)\times 100 \quad (1)$$

其中, k_m 为基质标准曲线斜率, k_s 为试剂标准曲线斜率。

一般认为: 当 ME>0 时, 为基质增强效应; 当 ME<0 时, 为基质减弱效应; 当 ME<-50%或>+50%时, 为强基质效应, 即基质效应非常显著; 当 ME 位于-20%~50%或+20%~50%的范围内, 为较强基质效应, 即基质效应显著; 当 ME 位于-20%~+20%之间, 为弱基质效应, 即基质效应不显著^[21]。

1.3.6 加标回收实验

选取不含待测物的小麦胚片作为测试样品, 分别进行 0.016、0.080 和 0.400 mg/kg 3 个含量水平的加标回收实验。称取待测样品, 加入相应体积的混合标准溶液和 10 mL 水充分混匀, 放置 60 min 后按照 1.3.3 中进行样品前处理, 得到样品测试溶液后上机分析。样品和加标样品中目标物的含量按照公式(2)计算:

$$X=\frac{C\times V_3\times f\times V_1\times 1000}{V_2\times m\times 1000} \quad (2)$$

式中, X 为待测物含量, mg/kg; C 为样品测试溶液中待测物质量浓度, μg/mL; V_1 为提取溶剂体积, mL; V_2 为用于氮吹的净化液体积, mL; V_3 为样品测试溶液定容体积, mL; m 为称样质量, g; f 为稀释倍数; 1000 为单位换算系数。

1.4 数据处理

使用 Microsoft Excel 2010 对实验数据进行统计和分析。

2 结果与分析

2.1 前处理方法优化

2.1.1 提取溶剂的选择

待测物涉及有机磷杀虫剂、拟除虫菊酯杀虫剂、三唑

类杀菌剂等多个种类, 结构差异较大且极性范围较广, 且在食品中残留量通常在 $\mu\text{g}/\text{kg}\sim\text{mg}/\text{kg}$ 级别。因此, 选择适宜的溶剂以确保所有待测物被提取出来是保证农药残留测定准确性的关键因素之一。根据文献报道, 就农药残留检测中常用到的提取溶剂甲醇、丙酮、乙腈、乙酸乙酯和正己烷而言, 乙腈对目标物的提取效果最好, 回收率均在 80% 以上^[13,22], 且少量醋酸的加入对提高目标物中易分解农药的稳定性有积极作用^[23]。在本研究中, 选择含 1% 醋酸的乙腈作为提取溶剂。由于小麦胚片产品的含水率较低, 参照 GB 23200.113—2018 中粮食类样品的前处理方法, 在加入提取溶剂前先用 2 倍样品质量的纯水浸润样品粉末 30 min。

2.1.2 净化材料用量的选择

GB 23200.113—2018 给出的普通谷物样品净化填料用量为每毫升待净化样品提取溶液对应的 PSA 和 C_{18} 均为 50 mg。鉴于小麦胚片样品具有淀粉含量相对较低, 蛋白质、脂肪及金属元素含量相对较高的特征, 在对样品提取溶液进行净化时, 将每毫升待净化溶液对应的 PSA 和 C_{18} 的用量增加为 60 mg, 以便更好地除去样品提取溶液中的金属离子、脂肪酸、脂肪等物质; 同时, 向待净化溶液中加入 100 mg GCB 用来除去色素。该净化方法在前期的研究工作^[24]中被证实效果较好, 因此, 当本研究中待净化提取溶液体积为 6 mL 时, 对应的 PSA、 C_{18} 和 GCB 的用量分别为 360、360 和 100 mg。

2.1.3 复溶溶剂的选择

本研究分别考察了以甲苯、丙酮和乙酸乙酯作为溶剂时, 各待测农药特征定量离子的响应值。以丙酮作为溶剂时, 敌敌畏、乐果、水胺硫磷、噻虫嗪、啉菌环胺、硫环磷、氟虫腈、杀扑磷、己唑醇、三唑磷、亚胺硫磷、伏杀硫磷、醚菊酯、氰戊菊酯、S-氰戊菊酯、溴氰菊酯和啉菌酯 17 种农药的响应较乙酸乙酯作为溶剂时降低明显, 响应值降低超过均超过 10%, 其中, 醚菊酯、敌敌畏和硫环磷的响应值降低超过 30%, 分别为 -65.31%、-45.04% 和

-38.76%; 戊唑醇的响应较乙酸乙酯作为溶剂时增强明显, 响应值增强 24.12%; 其余 27 种目标物的响应较乙酸乙酯作为溶剂时变化不明显, 响应值变化在 $\pm 10\%$ 的范围内。以甲苯作为溶剂时, 灭线磷、硫线磷、乐果、 β -六六六、 γ -六六六、 δ -六六六、氯唑磷、甲基毒死蜱、水胺硫磷、噻虫嗪、硫环磷、亚胺硫磷 12 种目标物的响应较乙酸乙酯作为溶剂时降低明显, 响应值降低超过 10%, 其中水胺硫磷和 β -六六六的响应值降低超过 -30%, 分别为 -36.33% 和 -35.03%; 戊唑醇和氯菊酯的响应较乙酸乙酯作为溶剂时增强明显, 响应值分别增强 33.19% 和 23.52%; 其余 31 种目标物的响应值较乙酸乙酯作为溶剂时变化不明显, 响应值变化在 $\pm 10\%$ 的范围内。综上, 甲苯和乙酸乙酯作为复溶溶剂优于丙酮。但由于乙酸乙酯对人体的毒性小于甲苯, 故而选用乙酸乙酯作为复溶溶剂。

2.2 质谱条件的优化

用乙酸乙酯分别配制质量浓度为 4.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的单一标准溶液, 采用 Scan 模式对 45 种目标物在 m/z 50~650 的范围内进行全扫, 扫描结果比对美国国家标准技术研究所 (National Institute of Standards and Technology, NIST) 谱库确定保留时间。结合 GB 23200.9—2016 等检测标准方法和 NIST 谱库, 每种目标农药选择 3~4 个特征离子, 以其中丰度和质荷比相对较大的离子作为定量离子, 其余作为定性离子。当定性离子的相对丰度大于 50% 时, 相对离子丰度最大允许范围误差为 $\pm 10\%$; 当定性离子的相对丰度在 20%~50% 的范围内, 相对离子丰度最大允许范围误差为 $\pm 15\%$; 当定性离子的相对丰度在 10%~20% 的范围内, 相对离子丰度最大允许范围误差为 $\pm 20\%$; 当定性离子的相对丰度小于 10% 时, 相对离子丰度最大允许范围误差为 $\pm 50\%$ 。用空白基质溶液配制 0.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的混合标准工作液, 在选定的气相色谱和质谱条件下对所有目标物的保留时间、特征离子及离子丰度比进行确认, 45 种农药目标物的总离子流图见图 1, 保留时间、特征离子及离子丰度比见表 1。

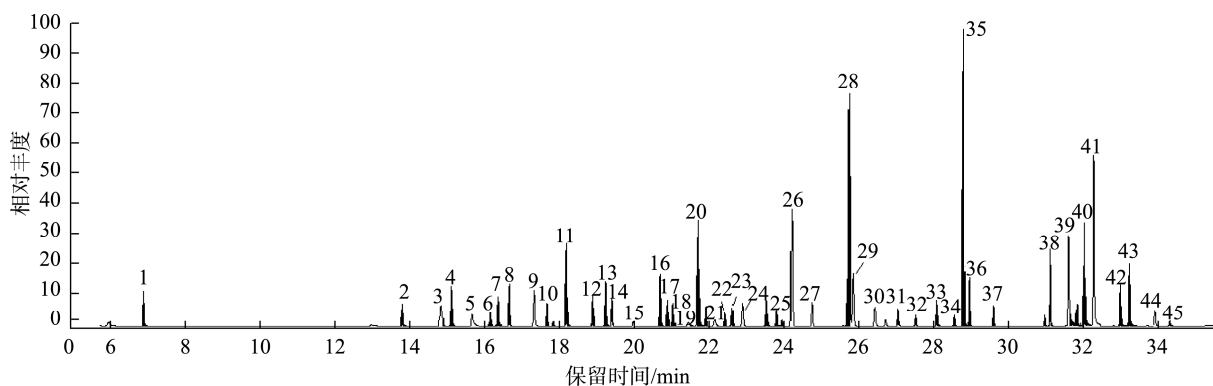


图 1 45 种农药的选择离子监测总离子流色谱图

Fig.1 SIM total ion chromatogram of 45 kinds of pesticides

表 1 45 种农药的保留时间、特征离子及离子丰度比
Table 1 Retention times, characteristic ions and ion abundance ratios of 45 kinds of pesticides

| 序号 | 化合物名称 | 保留时间/min | 定量离子 | 定性离子 1 | 定性离子 2 | 定性离子 3 |
|-----|---------------|----------|----------|---------|---------|---------|
| 内标物 | 环氧七氯 B | 21.86 | 353(100) | 351(53) | 355(93) | / |
| 1 | 敌敌畏 | 6.83 | 109(100) | 185(23) | 220(3) | / |
| 2 | 灭线磷 | 13.72 | 158(100) | 168(5) | 200(45) | 242(7) |
| 3 | 硫线磷 | 14.79 | 159(100) | 213(22) | 270(4) | / |
| 4 | α -六六六 | 15.04 | 183(100) | 219(50) | 221(26) | 254(2) |
| 5 | 乐果 | 15.60 | 87(100) | 125(89) | 229(4) | / |
| 6 | β -六六六 | 16.10 | 181(100) | 217(21) | 219(28) | 254(3) |
| 7 | γ -六六六 | 16.31 | 181(100) | 219(75) | 254(7) | / |
| 8 | 特丁硫磷 | 16.59 | 153(100) | 186(44) | 288(13) | / |
| 9 | δ -六六六 | 17.23 | 181(100) | 217(39) | 219(52) | 254(13) |
| 10 | 氯唑磷 | 17.61 | 161(100) | 257(32) | 285(19) | 313(3) |
| 11 | 抗蚜威 | 18.10 | 166(100) | 138(9) | 238(15) | / |
| 12 | 甲基毒死蜱 | 18.85 | 286(100) | 197(13) | 288(71) | / |
| 13 | 莠灭净 | 19.21 | 277(100) | 185(34) | 212(74) | / |
| 14 | 氟甲腈 | 19.38 | 333(100) | 388(57) | 390(37) | / |
| 15 | 杀螟硫磷 | 19.92 | 260(100) | 247(11) | 277(99) | / |
| 16 | 倍硫磷 | 20.65 | 278(100) | 153(20) | 169(35) | / |
| 17 | 三唑酮 | 20.86 | 208(100) | 181(43) | 210(32) | / |
| 18 | 水胺硫磷 | 21.00 | 136(100) | 130(17) | 289(6) | / |
| 19 | 噻虫嗪 | 21.38 | 182(100) | 212(99) | 247(41) | / |
| 20 | 噻菌环胺 | 21.70 | 224(100) | 210(11) | 225(55) | / |
| 21 | 硫环磷 | 22.12 | 140(100) | 92(79) | 196(44) | / |
| 22 | 氟虫腈 | 22.41 | 367(100) | 351(9) | 369(69) | / |
| 23 | 腐霉利 | 22.60 | 283(100) | 255(23) | 285(61) | / |
| 24 | 杀扑磷 | 22.86 | 145(100) | 157(4) | 302(2) | / |
| 25 | 己唑醇 | 23.79 | 214(100) | 231(33) | 256(26) | / |
| 26 | 4,4'-滴滴伊 | 24.18 | 246(100) | 248(63) | 316(27) | 318(34) |
| 27 | 氟虫腈砒 | 24.74 | 255(100) | 383(82) | 385(57) | / |
| 28 | 4,4'-滴滴滴 | 25.71 | 235(100) | 165(99) | 199(31) | 237(68) |
| 29 | 2,4'-滴滴涕 | 25.81 | 235(100) | 165(86) | 199(40) | 237(61) |
| 30 | 三唑磷 | 26.42 | 161(100) | 172(40) | 257(22) | / |
| 31 | 4,4'-滴滴涕 | 27.04 | 235(100) | 165(93) | 237(88) | 246(9) |
| 32 | 戊唑醇 | 27.52 | 250(100) | 163(31) | 252(32) | / |
| 33 | 氟环唑 | 28.08 | 192(100) | 138(42) | 183(17) | / |
| 34 | 亚胺硫磷 | 28.56 | 160(100) | 161(15) | 317(2) | / |
| 35 | 联苯菊酯 | 28.80 | 181(100) | 165(51) | 166(52) | / |
| 36 | 甲氧菊酯 | 28.95 | 181(100) | 265(22) | 349(3) | / |
| 37 | 伏杀硫磷 | 29.60 | 182(100) | 154(23) | 367(11) | / |
| 38 | 氯菊酯 | 31.14 | 183(100) | 184(16) | 255(4) | / |
| 39 | 腈苯唑 | 31.64 | 129(100) | 125(29) | 198(33) | / |
| 40 | 啶酰菌胺 | 32.04 | 140(100) | 112(29) | 167(23) | 342(16) |
| 41 | 醚菊酯 | 32.29 | 163(100) | 183(5) | 376(2) | / |
| 42 | 氰戊菊酯 | 33.01 | 167(100) | 181(65) | 225(64) | 419(10) |
| 43 | S-氰戊菊酯 | 33.26 | 167(100) | 181(75) | 225(74) | 419(9) |
| 44 | 溴氰菊酯 | 33.94 | 181(100) | 172(46) | 174(49) | / |
| 45 | 噻菌酯 | 34.33 | 344(100) | 372(13) | 388(27) | 403(13) |

注: /表示该化合物仅使用两个定性离子进行定性确证, 无定性离子 3; 特征离子后面的括号内为该离子与定量离子的丰度比。

2.3 基质效应

由于样品溶液中含有较多的基质成分, 当其与目标物在衬管或色谱柱柱头的活性位点产生竞争吸附作用, 会降低目标农药与活性位点接触的概率, 进而使得进入质量检测器的目标物更多, 响应值也随之增大^[16,25]。样品测试溶液中复杂的基质成分对检测器也容易造成污染, 缩短仪器的使用寿命^[26]。基质效应的强弱与基质种类存在密切关系^[27], 且与农药的结构和极性有关^[28]。分别用空白基质样品溶液和乙酸乙酯配制标准溶液系列, 在优化的仪器条件下进样分析并拟合标准曲线, 采用 1.3.5 中给出的公示计算基质效应 ME 值。45 种农药均表现出不同程度的基质增强效应, 其中: (1)敌敌畏、硫线磷、乐果、甲基毒死蜱、杀螟硫磷、倍硫磷、水胺硫磷、硫环磷、杀扑磷、氟虫腈、2,4'-滴滴涕、三唑磷、戊唑醇、氟环唑、亚胺硫磷、伏杀硫磷、腈苯唑、啶酰菌胺 18 种农药的 ME 大于+50%, 表现出非常显著的基质增强效应; (2) α -六六六、 β -六六六、 γ -六六六、 δ -六六六、莠灭净、4,4'-滴滴涕、氯菊酯、氰戊菊酯、S-氰戊菊酯和溴氰菊酯 10 种农药的 ME 位于 0.29%~19.41%之间, 表现出的基质增强效应较弱; (3)其余 17 种农药的 ME 位于 +20%~+50%之间, 表现出较强的基质增强效应。

2.4 方法学评价

GC-MS 测定农药残留时采用内标法或空白基质匹配标准溶液可显著提高测定的准确性^[29-30]。本研究在绘制标准曲线时以目标农药的质量浓度和内标物的质量浓度之比为横坐标、目标农药定量离子的响应值和内标物定量离子的响应值之比为纵坐标进行拟合。45 种农药均在 0.005~0.500 $\mu\text{g/mL}$ 的范围内呈现线性关系, 相关系数均在 0.9991 以上。以 10 倍的信噪比确定仪器定量限, 将其作为样品溶液中待测物的质量浓度, 代入 1.3.6 中给出的含量计算公式, 可计算得到定量限。45 种目标农药的定量限在 0.0030~0.0075 mg/kg 之间, 均低于 GB 23200.9—2016 给出的相应农药的定量限。表 2 给出了所有目标农药的线性回归方程和定量限。综上所述, 本方法给出的定量限低于 GB 2763—2021 中给出的相应农药的最大残留限量值; 同时本方法具备较宽的线性范围和较好的线性关系, 符合 GB/T 27404—2008《实验室质量控制规范 食品理化检测》中关于校准曲线的要求。

2.5 加标回收实验

选取不含待测物的小麦胚片作为测试样品, 通过进行低、中、高 3 个不同浓度水平的加标回收实验来考察方法的准确性和精密性。加标水平分别为 0.016、0.080 和 0.400 mg/kg, 每个加标水平重复进行 5 次。45 种待测农药的加标回收率均在 81.54%~111.62%之间, 符合 GB/T 27404—2008 中关于加标回收率的要求; 相对标准偏差在 0.34%~9.84%范围内,

表 2 45 种农药线性方程和定量限
Table 2 Regression equations and limit of quantitation of 45 kinds of pesticides

| 序号 | 化合物名称 | 线性方程 | 定量限 /(mg/kg) |
|----|---------------|----------------------|-----------------|
| 1 | 敌敌畏 | $Y=1.330e7X+1.075e4$ | 0.0045 |
| 2 | 灭线磷 | $Y=8.049e6X-2.106e4$ | 0.0075 |
| 3 | 硫线磷 | $Y=1.151e7X+6.938e4$ | 0.0075 |
| 4 | α -六六六 | $Y=6.900e6X+6.460e4$ | 0.0075 |
| 5 | 乐果 | $Y=8.869e6X-3.280e4$ | 0.0075 |
| 6 | β -六六六 | $Y=2.545e6X+4.106e4$ | 0.0045 |
| 7 | γ -六六六 | $Y=5.436e6X+1.138e4$ | 0.0075 |
| 8 | 特丁硫磷 | $Y=4.120e6X+2.780e4$ | 0.0075 |
| 9 | δ -六六六 | $Y=1.907e6X-3.520e3$ | 0.0030 |
| 10 | 氯唑磷 | $Y=6.888e6X+2.864e4$ | 0.0045 |
| 11 | 抗蚜威 | $Y=2.896e7X+9.575e3$ | 0.0045 |
| 12 | 甲基毒死蜱 | $Y=8.760e6X-1.637e4$ | 0.0075 |
| 13 | 莠灭净 | $Y=9.127e6X-2.108e4$ | 0.0060 |
| 14 | 氟甲腈 | $Y=6.541e6X-9.287e2$ | 0.0060 |
| 15 | 杀螟硫磷 | $Y=3.399e6X-7.280e3$ | 0.0060 |
| 16 | 倍硫磷 | $Y=1.513e7X+8.929e3$ | 0.0045 |
| 17 | 三唑酮 | $Y=7.496e6X+5.240e4$ | 0.0045 |
| 18 | 水胺硫磷 | $Y=1.581e7X+5.409e4$ | 0.0045 |
| 19 | 噻虫嗪 | $Y=3.627e6X-3.025e3$ | 0.0075 |
| 20 | 啉菌环胺 | $Y=3.459e7X-9.815e2$ | 0.0045 |
| 21 | 硫环磷 | $Y=9.991e6X+1.627e4$ | 0.0075 |
| 22 | 氟虫腈 | $Y=5.874e6X+2.539e3$ | 0.0075 |
| 23 | 腐霉利 | $Y=5.874e6X+1.966e4$ | 0.0060 |
| 24 | 杀扑磷 | $Y=1.588e7X-2.387e4$ | 0.0060 |
| 25 | 己唑醇 | $Y=9.984e6X+1.135e5$ | 0.0075 |
| 26 | 4,4'-滴滴伊 | $Y=2.542e7X+4.055e4$ | 0.0045 |
| 27 | 氟虫腈砒 | $Y=5.662e6X-5.065e3$ | 0.0075 |
| 28 | 4,4'-滴滴涕 | $Y=2.998e7X+9.746e3$ | 0.0045 |
| 29 | 2,4'-滴滴涕 | $Y=9.866e6X+5.344e4$ | 0.0060 |
| 30 | 三唑磷 | $Y=1.311e7X+4.138e5$ | 0.0075 |
| 31 | 4,4'-滴滴涕 | $Y=7.377e6X+1.204e4$ | 0.0075 |
| 32 | 戊唑醇 | $Y=8.210e6X+2.591e4$ | 0.0075 |
| 33 | 氟环唑 | $Y=1.686e7X+5.234e4$ | 0.0060 |
| 34 | 亚胺硫磷 | $Y=1.004e7X-1.866e4$ | 0.0075 |
| 35 | 联苯菊酯 | $Y=6.403e7X+2.019e3$ | 0.0045 |
| 36 | 甲氧菊酯 | $Y=1.697e7X+2.819e4$ | 0.0045 |
| 37 | 伏杀硫磷 | $Y=1.263e7X+1.723e5$ | 0.0075 |
| 38 | 氯菊酯 | $Y=3.290e7X+4.867e4$ | 0.0075 |
| 39 | 腈苯唑 | $Y=4.140e7X+4.294e5$ | 0.0045 |
| 40 | 啶酰菌胺 | $Y=3.636e7X+9.672e4$ | 0.0075 |
| 41 | 醚菊酯 | $Y=8.151e7X+3.468e5$ | 0.0075 |
| 42 | 氰戊菊酯 | $Y=9.913e6X+9.049e4$ | 0.0075 |
| 43 | S-氰戊菊酯 | $Y=8.426e6X-3.264e4$ | 0.0075 |
| 44 | 溴氰菊酯 | $Y=2.727e6X+1.313e4$ | 0.0075 |
| 45 | 啉菌酯 | $Y=1.274e7X+3.154e4$ | 0.0075 |

符合 GB/T 32465—2015《化学分析方法验证确认和内部质量控制要求》中关于精密度的要求。因此,该方法可应用于小麦胚片及相关食品中 45 种农药的快速筛查和定量测定。

2.6 实际样品测定

随机选取 18 份小麦胚片产品作为实际测试样品,采用本研究所建立的方法进行测定。结果表明,11 份小麦胚片样品中未检出本研究所涉及的目标农药,7 份小麦胚片样品中检出了本研究所涉及的目标农药。其中,3 份样品中检出溴氰菊酯,含量分别为 0.012、0.014 和 0.017 mg/kg;1 份样品中检出亚胺硫磷,含量为 0.016 mg/kg;1 份样品中检出戊唑醇,含量为 0.009 mg/kg;1 份样品中检出甲基毒死蜱和杀螟硫磷,含量分别为 0.053 和 0.033 mg/kg;1 份样品中检出 4,4'-滴滴伊,含量为 0.018 mg/kg。在测试样品中,所有检出农药的含量均小于 GB 2763—2021 中规定的小麦胚中相应农药的最大残留限量。

3 结 论

本研究建立了 QuEChERS-GC-MS 同时测定小麦胚中 45 种农药残留物的方法,采用含有 1%醋酸的乙腈提取样品中的待测物,使用 PSA、GCB、C₁₈ 和无水硫酸镁对样品提取液进行净化,溶剂置换后使用 GC-MS 进行检测,以空白基质匹配的标准溶液结合内标法定量。45 种目标农药的加标回收率在 81.54%~111.62% 的范围内,相对标准偏差在 0.34%~9.84% 范围内,定量限在 0.0030~0.0075 mg/kg 之间。该方法灵敏度好,准确性高,线性范围宽,可应用于小麦胚片及其为主要原料的食品中多种农药残留的快速筛查和定量检测。在研究过程中,针对样品基质的特殊性优化了 PSA 等净化材料的用量,考察了不同复溶溶剂对测定结果的影响,并评价了所有待测目标物的基质效应,为 QuEChERS-GC-MS 测定低淀粉、高蛋白、高脂肪且富含金属元素的粮谷类食品中的农药残留提供方法学数据,以期对 GB 23200.9—2016 以后的更新工作提供有益参考。

参考文献

- [1] 李欣,米生权,陈文,等. 麦胚的营养和功能活性及发酵对其影响的研究进展[J]. 中国粮油学报, 2021, 36(7): 195-202.
LI X, MI SQ, CHEN W, *et al.* Research progress on nutrient composition, functional activity of wheat germ and the effects of fermentation on them [J]. J Chin Cere Oils Ass, 2021, 36(7): 195-202.
- [2] 苑永建,宇光海,黄继红,等. 麦胚发酵物制备工艺及生物活性研究进展[J]. 粮食与油脂, 2022, 35(3): 12-16, 66.
YUAN YJ, YU GH, HUANG JH, *et al.* Research progress on preparation technology and biological activity of fermented wheat germ [J]. Cere Oils, 2022, 35(3): 12-16, 66.
- [3] ZHAO Y, LIAO AM, LIU N, *et al.* Potential anti-aging effects of fermented wheat germ in aging mice [J]. Food Biosci, 2021, 42: 101182.
- [4] 黄永军,周建新,沈新春. 小麦胚在食品工业中的研究进展与前景[J]. 粮食与饲料工业, 2016, (2): 23-25.
HUANG YJ, ZHOU JX, SHEN XC. Recent applications and prospects of wheat germ in the food industry [J]. Cere Food Ind, 2016, (2): 23-25.
- [5] ZHAO YSH, ZHANG JY, WEI YX, *et al.* Improvement of bread quality by adding wheat germ fermented with *Lactobacillus plantarum* dy-1 [J]. J Food Qual, 2020, (14): 1-8.
- [6] 侯银臣,吕行,黄继红,等. 脱脂麦胚酸奶制备工艺技术研究[J]. 食品工业, 2019, 40(11): 75-78.
HOU YC, LV X, HUANG JH, *et al.* Optimization of fermentation conditions for defatted wheat germ [J]. Food Ind, 2019, 40(11): 75-78.
- [7] 孙丽娟,徐春春,胡学旭,等. 我国谷物质量安全隐患浅析[J]. 中国农业科技导报, 2017, 19(9): 8-14.
SUN LJ, XU CC, HU XX, *et al.* Risk analysis of grain safety and quality in China [J]. J Agric Sci Technol, 2017, 19(9): 8-14.
- [8] SHAO YT, WANG YP. Pesticide residues and government regulation in China-evidence from pesticide residues in fruits and vegetables [J]. Agric Sci Technol, 2021, 22(1): 42-49.
- [9] 杨冬莹,接伟光,乔薇,等. 谷物中农药残留检测方法研究现状[J]. 粮食与油脂, 2022, 35(1): 1-9.
YANG DY, JIE WG, QIAO W, *et al.* Reach status on the detection methods of pesticide residue in grain [J]. Cere Oils, 2022, 35(1): 1-9.
- [10] LEHOTAY SJ, MASTOVSKA K, YUN SJ. Evaluation of two fast and easy methods for pesticide residue analysis in fatty food matrixes [J]. J AOAC Int, 2005, 88(2): 630-633.
- [11] 高璐斐. QuEChERS 净化液相色谱质谱法快速筛查小麦中污染物方法的建立[D]. 西安: 西北农林科技大学, 2018.
GAO LF. Establishment of QuEChERS purification liquid chromatography-mass spectrometry for rapid screening of pollutants in wheat [D]. Xi'an: Northwest Agriculture & Forestry University, 2018.
- [12] HARISCHANDRA NR, PALLAVI MS, BHEEMANNA M, *et al.* Simultaneous determination of 79 pesticides in pigeonpea grains using GC-MS/MS and LC-MS/MS [J]. Food Chem, 2021, 347: 128986.
- [13] 杨佳昊,盛佳联,杨晓云,等. 气质联用法测定稻米中 8 种农药残留[J]. 食品工业, 2021, 42(6): 432-435.
YANG JH, SHEGN JL, YANG XY, *et al.* Determination of eight pesticide residues in rice by dispersive solid phase extraction-GC-MS [J]. Food Ind, 2021, 42(6): 432-435.
- [14] 张艳,李慧冬,丁蕊艳,等. QuEChERS-GC-MS 同时测定梨中 21 种有机磷农药残留[J]. 食品工业, 2019, 40(11): 323-327.
ZHANG Y, LI HD, DING RY, *et al.* Simultaneous determination of 21 organophosphorus pesticide residues in pears by QuEChERS-GC-MS [J]. Food Ind, 2019, 40(11): 323-327.
- [15] SOLIMAN M, KHORSHID MA, MOHAMED M. Combination of analyte protectants and sandwich injection to compensate for matrix effect of pesticides residue in GC-MS/MS [J]. Microchem J, 2020, 156: 104852.
- [16] 尹戈,范军,史晓磊,等. GC-MS /MS 农药残留基质效应[J]. 环境化学, 2019, 38(9): 2162-2165.
YIN G, FAN J, SHI XL, *et al.* Matrix effect on pesticides in vegetables by

- GC-MS/MS analysis [J]. *Environ Chem*, 2019, 38(9): 2162–2165.
- [17] YU CC, HAO DY, CHU Q, *et al.* A one adsorbent QuEChERS method coupled with LC-MS/MS for simultaneous determination of 10 organophosphorus pesticide residues in tea [J]. *Food Chem*, 2020, 321: 126657.
- [18] HASSAN S, ZAHRA M, SARA S, *et al.* A green miniaturized QuEChERS based on an *Electrospun nanofibrous* polymeric deep eutectic solvent coupled to gas chromatography-mass spectrometry for analysis of multiclass pesticide residues in cereal flour samples [J]. *J Mol Liq*, 2022, 364: 120077.
- [19] KEKOJEVIĆ I, ĐEKIĆ S, LAZOVIĆ, *et al.* Evaluation of LC-MS/MS methodology for determination of 179 multi-class pesticides in cabbage and rice by modified QuEChERS extraction [J]. *Food Control*, 2021, 123: 107693.
- [20] 严斌, 刘丽娅, 钟葵, 等. 基于 ICP-MS 的不同来源小麦胚芽矿物元素对比分析[J]. *中国粮油学报*, 2016, 31(11): 7–12.
- YAN B, LIU LY, ZHONG K, *et al.* Comparative analysis of mineral elements based on ICP-MS in wheat germ from different sources [J]. *J Chin Cere Oils Ass*, 2016, 31(11): 7–12.
- [21] LI SH, YU PP, ZHOU C, *et al.* Analysis of pesticide residues in commercially available Chenpi using modified QuEChERS method and GC-MS/MS determination [J]. *J Pharm Anal*, 2020, 10: 60–69.
- [22] 刘胜男, 韩四海, 权明珠, 等. QuEChERS/GC-MS 法同时测定果蔬中 24 种农药残留[J]. *食品工业*, 2017, 38(12): 284–289.
- LIU SN, HAN SH, QUAN MZ, *et al.* Determination of 24 pesticide residues in fruits and vegetables by QuEChERS method coupled with gas chromatography-mass spectrometry [J]. *Food Ind*, 2017, 38(12): 284–289.
- [23] 连玉晶, 周一冉, 孙欣, 等. 基于胺基功能化磁性纳米粒子改进 QuEChERS 方法结合 GC-MS/MS 检测果蔬中 7 种农药残留[J]. *食品科学*, 2021, 42(4): 279–304.
- LIAN YJ, ZHOU YR, SUN X, *et al.* Development of a modified QuEChERS method based on amine-functionalized iron oxide nanoparticles for the simultaneous determination of seven pesticides in fruits and vegetables by GC-MS/MS [J]. *Food Sci*, 2021, 42(4): 279–304.
- [24] 李婷婷, 王蓉, 任兴权, 等. 气相色谱法同时测定小麦胚片中 26 种有机磷农药残留[J/OL]. *食品工业科技*: 1-12. [2022-7-19]. <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2022030290>
- LI TT, WANG R, RENG XQ, *et al.* Determination of 26 kinds of organophosphorus pesticide residues in wheat germ by gas chromatography method simultaneously [J/OL]. *Sci Technol Food Ind*: 1-12. [2022-7-19]. <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2022030290>
- [25] FUJIYOSHI T, IKAMI T, SATO T, *et al.* Evaluation of the matrix effect on gas chromatography-mass spectrometry with carrier gas containing ethylene glycol as an analyte protectant [J]. *J Chromatogr A*, 2016, 1434: 136–141.
- [26] 马桂娟, 张瑶, 汤丽华, 等. GC-MS/MS 同时测定枸杞籽油中 28 种农药残留[J]. *中国酿造*, 2019, 32(2): 194–198.
- MA GJ, ZHANG Y, TANG LH, *et al.* Simultaneous determination of 28 pesticide residues in goji seed oil by GC-MS/MS [J]. *China Brew*, 2019, 32(2): 194–198.
- [27] 张利强, 程盛华, 李琪, 等. 气相色谱法测定谷物中 9 种有机磷农药残留量的基质效应[J]. *理化检验: 化学分册*, 2016, 52(2): 136–140.
- ZHANG LQ, CEHNG SH, LI Q, *et al.* Matrix effect on GC determination of 9 organophosphorus pesticides in grains [J]. *Phys Test Chem Anal Part B: Chem Anal*, 2016, 52(2): 136–140.
- [28] 易盛国, 候雪, 韩梅, 等. 气相色谱-串联质谱法检测蔬菜农药残留基质效应与基质分类的研究[J]. *西南农业学报*, 2012, 25(2): 537–543.
- YI SG, HOU X, HAN M, *et al.* Study on matrix effects and matrix classification of pesticide residues in vegetable by gas chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Southwest China J Agric Sci*, 2012, 25(2): 537–543.
- [29] 赵海峰, 王建华, 郇欣, 等. 蔬菜农药残留 GC-MS 分析方法改进与基质效应探讨[J]. *中国海洋大学学报*, 2006, 36(1): 76–80.
- ZHAO HF, WANG JH, BING X, *et al.* An improvement on the GC-MS method for vegetable pesticide residues analysis and discussion of matrix effects [J]. *J Ocean Univ China*, 2006, 36(1): 76–80.
- [30] DURAK BY, CHORMEY DS, FIRAT M, *et al.* Validation of ultrasonic-assisted switchable solvent liquid phase microextraction for trace determination of hormones and organochlorine pesticides by GC-MS and combination with QuEChERS [J]. *Food Chem*, 2020, 305: 124587.

(责任编辑: 郑 丽 张晓寒)

作者简介



李婷婷, 硕士, 工程师, 主要研究方向为食品安全检测与食品质量评价。
E-mail: litingting5180@163.com



孙姗姗, 博士, 副研究员, 主要研究方向为食品安全检测、食品的真实性检验及过敏原的鉴定。
E-mail: shanshans112@163.com