

# QuEChERS-高效液相色谱串联质谱法测定豆芽与生产环境水样中多菌灵残留及其不确定度评估

曾志杰<sup>1</sup>, 李传勇<sup>1</sup>, 刘红<sup>2</sup>, 陈其煌<sup>1</sup>, 黄和勇<sup>1</sup>, 陈琼<sup>1</sup>, 刘光明<sup>2\*</sup>

(1. 农业部农产品质量安全监督检验测试中心(厦门), 厦门 361009; 2. 集美大学食品与生物工程学院, 厦门 361021)

**摘要:** **目的** 建立 QuEChERS-高效液相色谱串联质谱法(QuEChERS-high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry)检测豆芽与其生产环境水样中多菌灵的痕量残留分析方法, 并对豆芽中多菌灵残留降解和测量不确定度的各因素进行分析。 **方法** 样品用 0.1%乙酸乙腈提取, 经 QuEChERS 净化, 液相色谱-串联质谱测定, 外标法定量。 **结果** 本方法在 10.0~200.0  $\mu\text{g/L}$  范围内的线性关系良好( $r^2>0.999$ ), 空白豆芽中分别添加 50、100、200  $\mu\text{g/kg}$  3 个质量浓度水平, 平均回收率为 85.7%~93.6%, 相对标准偏差为 2.02%~5.19%, 方法的检出限(LOD)为 16  $\mu\text{g/kg}$ ; 空白水样中分别添加 0.05、0.10、0.20  $\mu\text{g/kg}$  3 个浓度水平, 平均回收率为 84.2%~90.4%, 相对标准偏差为 3.84%~5.53%, 方法的检出限(LOD)为 0.02  $\mu\text{g/kg}$ 。多菌灵残留降解的处理浓度对其残留量的影响大于采收日期、温度处理和喷水处理; 测定结果的不确定度主要来源于回收率、采用最小二乘法拟合标准工作曲线求得样品浓度过程及标准溶液的配制。 **结论** 本研究方法的 LOD 较低, 前处理简单、快速, 灵敏度及准确度均符合农药残留检测要求, 适用于豆芽和水样中的多菌灵痕量残留分析。

**关键词:** 多菌灵; QuEChERS-液相色谱-串联质谱法; 豆芽; 水; 不确定度

## Determination and uncertainty analysis of carbendazim residues in bean sprout and its contaminate water sources by QuEChERS and high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry

ZENG Zhi-Jie<sup>1</sup>, LI Chuan-Yong<sup>1</sup>, LIU Hong<sup>2</sup>, CHEN Qi-Huang<sup>1</sup>, HUANG He-Yong<sup>1</sup>,  
CHEN Qiong<sup>1</sup>, LIU Guang-Ming<sup>2\*</sup>

(1. Agriculture Product Quality Inspection and Supervision Center, Ministry of Agriculture (Xiamen), Xiamen 361009, China; 2. College of Food and Bioengineering, Jimei University, Xiamen 361021, China)

**ABSTRACT: Objective** To establish a method for trace level analysis of carbendazim in bean-sprout and its contaminate sources water by QuEChERS and high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry (HPLC-MS/MS). The degradation of carbendazim in bean sprout and the uncertainty originated from the measurement of carbendazim in bean sprout were analyzed and evaluated. **Methods** The sample was extracted with 0.1% acetic acid acetonitrile directly, and purified by QuEChERS, then analyzed by HPLC-MS/MS. The quantization was carried out by the external standard method. **Results** A good linear relationship was obtained in the range of 10~200.0  $\mu\text{g/L}$  with the correlation coefficient ( $r^2$ ) over 0.999. The

基金项目: 厦门市科技计划项目(3502Z20132010)

**Fund:** Supported by the Science & Technology Program of Xiamen (3502Z20132010)

\*通讯作者: 刘光明, 博士, 教授, 主要研究方向为食品加工与安全。E-mail: gmliu@jmu.edu.cn

\*Corresponding author: LIU Guang-Ming, Professor, Food and Biological Engineering, Jimei University, No.43, Yindou Road, Jimei District, Xiamen 361021, China. E-mail: gmliu@jmu.edu.cn

recoveries of carbendazim in blank bean sprout at 3 spiked levels of 50, 100, 200  $\mu\text{g}/\text{kg}$  ranged from 85.7%~93.6%, the relative standard deviation (RSD) from 2.02%~5.19%, and the limit of detection (LOD) of the method was 16  $\mu\text{g}/\text{kg}$ . The recoveries of carbendazim in blank water at 3 spiked levels of 0.05, 0.10, 0.20  $\mu\text{g}/\text{kg}$  ranged from 84.2%~90.4%, the RSD from 3.84%~5.53%, and the LOD of the method was 0.02  $\mu\text{g}/\text{kg}$ . The impact of the processing concentration on the residues was greater than the harvest time, processing temperature and spray water. The measurement uncertainty was mainly due to recovery rate, the least square fitting of the working curve and preparation process of standard solution. **Conclusion** This method is simple, rapid and characterized with acceptable sensitivity and accuracy to meet the requirements of the carbendazim residue analysis, which is suitable for the conformation and quantification of the carbendazim in bean sprout and its contaminate water sources.

**KEY WORDS:** carbendazim; QuEChERS and high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry; bean sprouts; water; uncertainty

## 1 引言

多菌灵(carbendazim)属高效低毒类广谱内吸性杀菌剂,具有内吸治疗和保护作用<sup>[1]</sup>,自20世纪70年代中期,迅速代替了有机汞、有机硫类杀菌剂,是目前国内需求量较大的杀菌剂品种,在水果、蔬菜和作物上应用非常广泛<sup>[2]</sup>。虽然多菌灵能有效抑制病原菌的繁殖、生长,但在自然环境中降解较慢,残效期长,易在植物体内富集<sup>[3]</sup>,且有一定的毒性,已有研究表明,多菌灵能够干扰哺乳动物的内分泌,并对精母细胞的减数分裂产生影响<sup>[4,5]</sup>。为此,世界各国分别制定了多菌灵的残留限量标准,我国标准规定蔬菜中多菌灵的最高残留限量(MRL)为0.02~5.0  $\text{mg}/\text{kg}$ <sup>[6]</sup>,但不宜使用于芽菜类。可豆芽这类含水量高及销售过程中容易腐烂的蔬菜,为防止豆芽变质,多菌灵常被一些不良生产者用于豆芽的发制与消毒,由此带来的豆芽安全性问题日益严重。

20世纪90年代以来,国内外对蜂蜜、水果、蔬菜及各种食品中的多菌灵残留进行了研究,其检测方法主要有紫外分光光度法<sup>[7,8]</sup>、液相色谱法<sup>[9-15]</sup>、液相色谱-串联质谱法<sup>[16-18]</sup>等。农业部发布的行业标准NY/T 1453-2007、NY/T 1680-2009<sup>[10]</sup>是检测蔬菜、水果中多菌灵残留量的重要依据,其方法的前处理方法均较为繁琐,方法的检出限(LOD)分别为0.02  $\text{mg}/\text{kg}$ 、0.07  $\text{mg}/\text{kg}$ ;因此探索一套快速、准确的检测方法十分必要。目前,关于多菌灵在豆芽与其生产环境水样中的针对性检测及豆芽中多菌灵的残留降解动态分析尚未见报道。本文以 QuEChERS<sup>[19]</sup>技术为

基础,探索适合豆芽基质的前处理方法,进一步结合高效液相色谱-串联质谱(high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, HPLC-MS/MS)技术,建立多菌灵残留痕量分析方法,以期作为豆芽工厂化生产与检测提供技术参考。

## 2 材料与方法

### 2.1 供试材料

黄豆和绿豆:本地产。黄豆芽和绿豆芽由本实验室和工厂(厦门市绿盛生态农业有限公司)提供。市售豆芽:厦门市各农贸市场购买。豆芽生产环境水样:由豆芽生产工厂提供。

### 2.2 仪器与试剂

API 5000 三重四极杆串联质谱仪(美国 AB Sciex 质谱系统公司), 配电喷雾离子源(ESI), 配 SHIM AD ZU 20A 高效液相色谱仪(日本岛津公司); IKA T18 Basic 高速组织分散机(德国 IKA 公司); CF16RX II 型冷冻高速离心机(日本 Hitachi 公司); TP-202 型电子天平(赛多利斯科学仪器北京有限公司); 旋涡混合器(德国 IKA 公司); Milli-Q 超纯水仪(美国 Millipore 公司); 固相萃取装置(美国 SUPELCO 公司)。氮吹仪(美国 OA-SYS 公司)。DY801 型自动豆芽机(中国中山市迪尼仕电器制造有限公司)。

多菌灵(carbendazim)标准储备溶液: 1000  $\text{mg}/\text{L}$ (农业部环境质量监督检验测试中心, 天津); OriQuE 萃取盐包(内含 6 g  $\text{MgSO}_4$ 、1.5 g  $\text{NaCl}$ ); DisQuE 净化管①(2 mL, 内含 150  $\text{mg}$   $\text{MgSO}_4$ 、25  $\text{mg}$  乙二胺-N-丙基硅烷(PSA)); DisQuE 净化管②(2 mL,

内含 150 mg MgSO<sub>4</sub>、50 mg PSA、50 mg C<sub>18</sub>); DisQuE 净化管③(2 mL, 内含 150 mg MgSO<sub>4</sub>、50 mg PSA、5 mg 石墨化碳黑(GCB)、50 mg C<sub>18</sub>)(美国 Agilent 公司); ODS-C<sub>18</sub>(10 g, 60 mL, 美国 Agilent 公司); 甲醇、乙腈(色谱纯, 美国 Tedia 公司); 甲酸、乙酸(分析纯, 上海国药集团化学试剂有限公司); 实验用水为超纯净水。

## 2.3 样品前处理

### 2.3.1 试样制备

样品用组织捣碎机捣成匀浆, 于 4 °C 冷藏保存。水样取自豆芽生产环境废水排放口之水, 水样过 0.45 μm 水相滤膜以除去悬浮物及残渣。

### 2.3.2 样品提取与净化

豆芽: 准确称取匀浆试样 5.00 g(精确至 0.01 g) 于 50 mL 具塞离心管中, 加入 20 mL 乙腈(含 0.1% 乙酸), 涡旋振荡 30 s, 超声提取 15 min 后, 再加入 2 g OriQuE 萃取盐包, 涡旋振荡 30 s, 以 8000 r/min 离心 5 min, 吸取上层乙腈相 1.0 mL 转移至 DisQuE 净化管②中, 涡旋振荡 30 s, 以 15000 r/min 离心 5 min, 取上清液过 0.22 μm 有机滤膜, 待测。

水样: 采用 ODS-C<sub>18</sub> 固相萃取柱富集。上样前, 先用 20 mL 甲醇活化小柱, 再依次加入 20 mL 50% 甲醇水溶液和 20 mL 纯水缓慢通过萃取小柱, 流速 < 5 mL/min。利用大容量进样器将 500 mL 水连续通过已活化的萃取小柱, 调整萃取装置, 控制流速为 ≤ 10 mL/min, 待水样全部抽完后, 用平稳的气流继续抽 1 min, 使待测组分充分富集在 SPE 柱上。最后用 10 mL 乙腈洗脱, 自然流下, 滴完后再抽滤至干, 收集洗脱液, N<sub>2</sub> 吹干, 1 mL 乙腈定容并转移至 DisQuE 净化管②中, 涡旋振荡 30 s, 以 15000 r/min 离心 5 min, 取上清液过 0.22 μm 有机滤膜, 待测。

## 2.4 高效液相色谱-串联质谱测定条件

### 2.4.1 液相色谱条件

色谱柱: Sunfire C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm); 柱温 30 °C; 进样量: 2 μL; 流速: 0.3 mL/min; 流动相: A 相为水(含 0.1% 甲酸, 5% 乙腈), B 相为乙腈(含 0.1% 甲酸, 5% 水); 梯度洗脱: 0~2 min, 30% B; 2~15 min, 30%~100% B; 15~16 min, 100%~30% B; 16~18 min, 30% B。

### 2.4.2 质谱条件

电喷雾离子源(ESI), 正离子模式扫描; 质谱扫描方式: 多反应监测模式(MRM); 电喷雾电压(IS):

5500 V; 离子源雾化器温度(TEM): 550 °C; 雾化气压力(GS1): 344.75 kPa; 辅助气压力(GS2): 344.75 kPa; 气帘气压力(CUR): 206.85 kPa; 碰撞气压力(CAD): 34.475 kPa; EP: 10 V; CXP: 12 V; 去簇电压(DP)100 V; 仪器工作软件为 Analyst 1.5.1。

## 2.5 标准溶液配制

分别用甲醇将多菌灵标准储备液(1000 mg/L)逐级稀释至 0.2、0.1、0.05、0.02、0.01 mg/L 工作溶液, 现配现用。

## 2.6 残留降解动态试验

(1)用 2.1 中所述发制豆芽, 根据豆芽菜生产的实际情况, 设 1、5、10、20 mg/L 及空白对照 5 个小组, 每小组做 3 次重复。分别用 0、1、5、10、20 mg/L 多菌灵溶液的去离子水与绿豆(或黄豆)2:1(*m:m*)浸泡, 隔夜可至溶液完全吸收, 将浸泡后的绿豆种子取出平铺在纱布上, 放入有滤水装置的培育器皿中, 铺料密度适中, 再用 2 层纱布将绿豆盖上, 暗室培育, 3 d 后揭开盖上的纱布, 其喷水量为 6 次/d, 每次加入去离子水 1.0 mL/g, 以起始种重计。自然生长温度为 19~28 °C。每个小组分别于第 0、1、2、3、4、5、6、7 d 取样<sup>[20]</sup>。

(2)以 10 mg/L 多菌灵溶液的去离子水发制绿豆芽或黄豆芽, 种子浸泡方法同 2.6(1)。设计 4 组不同培养方式的试验: 第一组(LD<sub>1</sub>)设定绿豆芽的自然生长温度为 15~23 °C, 喷水同 2.6(1); 第二组(LD<sub>2</sub>)设定绿豆芽的自然生长温度为 19~28 °C, 喷水同 2.6(1); 第三组(LD<sub>3</sub>)设定绿豆芽的自然生长温度为 19~28 °C, 喷水由自动豆芽机控制; 第四组(LD<sub>4</sub>)设定黄豆芽的自然生长温度为 15~23 °C, 喷水同 2.6(1)。各组做 3 次重复。

## 2.7 计算样品中多菌灵含量的数学模型

样品中多菌灵的残留量可用式(1)计算。

$$Y = \frac{c \times A_1 \times V_1 \times V_2}{m \times A_2 \times V_3 \times R} \times f \quad (1)$$

式(1)中: *Y*-样品中多菌灵的残留量(mg/kg); *c*-标准溶液中多菌灵的质量浓度(mg/L); *A*<sub>1</sub>-样品溶液中多菌灵的峰面积; *A*<sub>2</sub>-标准溶液中多菌灵的峰面积; *V*<sub>1</sub>-样品提取液的体积(mL); *V*<sub>2</sub>-标准溶液的进样体积(μL); *V*<sub>3</sub>-样品溶液的进样体积(μL); *m*-样品的质量(kg); *R*-添加回收率; *f*-稀释倍数。

## 2.8 方法的重现性试验

准确称取同一匀浆豆芽试样6份, 各5.0 g(精确至0.01 g)于50 mL具塞离心管中, 在相同试验条件下萃取、净化并测定其中的多菌灵含量, 计算方法的精密度。

## 3 结果和讨论

### 3.1 提取条件的优化

#### 3.1.1 提取溶剂选择

本实验以极性溶剂甲醇、乙腈为提取剂, 同时考虑到豆芽中含有大量水分及多菌灵的特性, 在提取剂中加入0.1%乙酸。实验发现, 当用甲醇(含0.1%乙酸)提取样品时, 即使加入萃取盐包中的盐析剂, 甲醇与水也很难分层, 提取液中含有较多水分。用乙腈(含0.1%乙酸)提取时, 在萃取盐包的存在下, 静置后, 乙腈与水很容易分层, 且乙腈对糖类、蛋白质和脂肪的溶解性差, 明显降低了基体中杂质的溶出。因此, 本实验选择乙腈(含0.1%乙酸)为提取剂。

#### 3.1.2 净化条件的选择

PSA 是分散固相萃取中的极性吸附剂, 能有效与样品中的有机酸、糖类以及色素发生离子交换作用, 但不吸附多菌灵, 通过试样与吸附剂直接接触, 以去除基体中的杂质, 达到净化试样的目的, 故本实验选择 QuEChERS 为前处理方法。

净化过程中考察了净化剂为 PSA、PSA+C<sub>18</sub>、PSA+C<sub>18</sub>+GCB 的3种净化方式, 针对同一豆芽样品进行加标(0.2 mg/kg)回收试验, 重复6次, 结果显示: 其相应的平均回收率为80.2%、89.9%、37.6%。虽然净化剂为 PSA+GCB+C<sub>18</sub>的相对响应值较高, 杂质干扰小, 但对于平均回收率而言, 这种净化剂对多菌灵的回收率偏低, 很可能是由于 GCB 导致萃取过程中多菌灵的清除; 净化剂为 PSA、PSA+C<sub>18</sub>的相对响应值较低, 杂质干扰较多, 但对于平均回收率而言, 这两种净化剂对多菌灵的回收率相对较高。豆芽本身不属于深色样品, 也不是高脂肪类样品, 在净化方式上单纯 PSA 即能达到净化要求, 而 PSA+C<sub>18</sub>的净化效果更好, 因此确定净化剂时, 选择 PSA+C<sub>18</sub>。

### 3.2 液相-串联质谱条件的优化

#### 3.2.1 流动相的选择

Lehotay 等<sup>[21]</sup>认为, 在 ESI<sup>+</sup>模式下, 在流动相中加入甲酸可提供 H<sup>+</sup>, 可提高离子化效率, 本实验在

流动相中同样选择添加 0.1%的甲酸作为流动相改良剂。但是, Lehotay 等采用乙腈(含 0.1%甲酸)作为有机相, 水(含 0.1%甲酸)作为水相。本实验在水相水中加入 5%乙腈, 同时还相应的调整有机相乙腈的比例(含 0.1%甲酸, 5%水), 这样可以使基线更平稳, 离子化效率更高。

#### 3.2.2 质谱条件的优化

用蠕动泵进样方式以针泵 0.5 μL/min 流速分别将 0.1 μg/mL 多菌灵标准溶液连续注入质谱仪, 在电喷雾离子源正极模式下进行全扫描, 再进行子离子扫描, 选取碰撞后所得丰度较高的两个子离子作为特征离子, 确定定量离子和辅助定性离子, 通过优化离子源温度、去溶剂气温度及流量、气帘气压力、去簇电压、碰撞能量等参数, 优化后的 MRM 参数见 2.4.2。定量离子对为(*m/z*) 192.1>160.1、碰撞能量 25 eV; 定性离子对为(*m/z*) 192.1>132.1, 碰撞能量 40 eV。

在各种参数优化后, 多菌灵标准溶液的 HPLC/MS/MS 图(见图 1), 其峰的保留时间为 6.58 min。

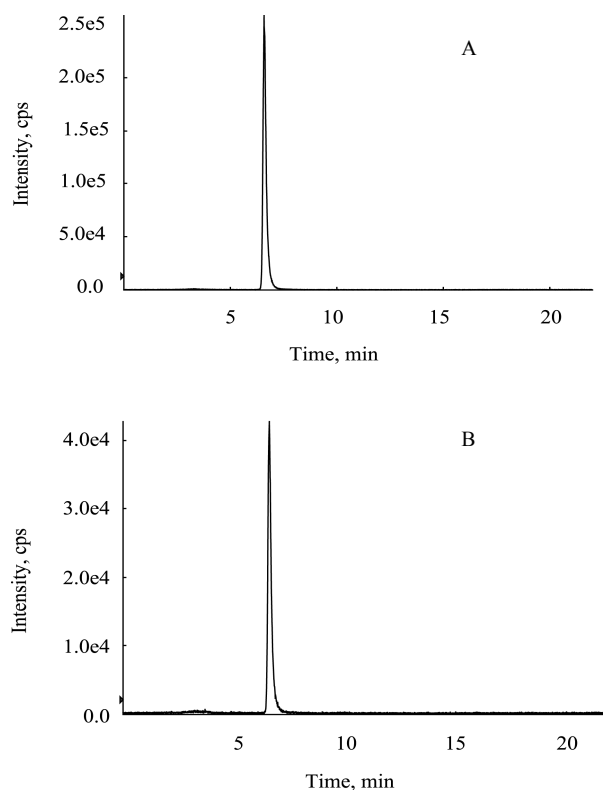


图1 多菌灵标准溶液的多反应监测(MRM)离子流色谱图(10 μg/L)

Fig. 1 Multiple reaction monitoring(MRM) chromatograms of carbendazim(10 μg/L)

A. 定量离子图谱(chromatogram of quantitative ion); B. 定性离子图谱(chromatogram of qualitative ion)

### 3.3 方法线性相关性及检出限

在优化的液相色谱及质谱条件下,对一定范围浓度的标准溶液,在选定的条件下进行测定,用峰面积( $Y$ )对标准溶液中被测组分的浓度( $X$ )做图并计算,按信噪比的3倍计算方法的检出限(LOD),按信噪比的10倍计算方法的定量限(LOQ),结果见表1。

### 3.4 方法准确度

在优化的液相色谱及质谱条件下,采用本方法对绿豆芽和水的阴性样品进行3个添加水平的回收率实验,6次重复。3个添加水平的多菌灵回收率在81.2%~91.6%之间,相对标准偏差(RSD)在2.04%~5.03%之间,说明方法的回收率和精密度良好。结果见表2。

### 3.5 方法的应用

应用本方法对从市场抽取的3批次黄豆芽、绿豆芽共67份样品进行检测,检出豆芽中多菌灵含量0.1 mg/kg的共3份,其含量分别为0.13、0.17、0.41 mg/kg。应用NY/T 1680-2009和NY/T 1453-2007对检出多菌灵的3份样品进行测定,测得的结果与本方法基本一致。结果表明,本方法能满足市场豆芽中多菌灵残留检测要求。从检出多菌灵样品的生产日期中发现,主要以夏季为主,可能是以防豆芽烂种而用多菌灵浸种或生产器具消毒所致。

### 3.6 残留降解动态分析

以0 d(浸泡后取出即0 d)多菌灵溶液全部吸收的残留量为原始残留量,做降解率分析。结果显示,不同浓度处理下绿豆芽中多菌灵的残留量,在7 d的检测期内都呈现显著的下降趋势,并且表现为负指数函数关系,即随着时间的延长,残留量逐渐减少,且前期降解速率大于后期,其降解动态曲线符合一级动力学方程。但是不同浓度处理呈现不同的特点(表3),0、1、5、10、20 mg/L浓度处理绿豆芽多菌灵残留量的半衰期 $T_{1/2}$ 分别为0、1.46、1.63、1.96、2.19 d。结果表明,处理浓度越低,原始残留量越低,其残留量的半衰期越短,降解速度越快,至采收时,处理浓度越低,残留量越少。

不同方式培养下的豆芽中,多菌灵残留降解动态结果见表4。结果显示,不同方式(LD<sub>1</sub>、LD<sub>2</sub>、LD<sub>3</sub>、LD<sub>4</sub>)培养下,豆芽中的多菌灵残留量,在7 d的检测期内,均呈现显著的下降趋势,并且其相应的半衰期 $T_{1/2}$ 分别为2.46、1.96、1.04、2.81 d。结果表明,生长温度不同,处理温度越高,生长越快,其残留量的半衰期越短,降解速度越快,至采收时,残留量越少;喷洒水量不同,喷洒水量相对较多,生长较快,其残留量的半衰期越短,降解速度越快,至采收时,残留量越少;培养方式相同,品种不同,其残留量的半衰期也不一样,绿豆比黄豆短,至采收时,黄豆中的多菌灵残留量相对较多,原因可能是黄豆采收时子叶所占比重大,子叶中多菌灵残留降解慢。

表1 空白豆芽、水的基质中添加多菌灵的线性相关性、方法的检出限及定量限

Table 1 Regression equations, correlation coefficients, LOD and LOQ of carbendazim in the blank bean sprout and waters sample

基质	检测方法	浓度范围( $\mu\text{g/L}$ )	回归方程	相关系数( $r^2$ )	检出限( $\mu\text{g/kg}$ )	定量限( $\mu\text{g/kg}$ )
豆芽	HPLC-MS/MS	10~200	$Y=2.18 \times 10^8 X + 5.51 \times 10^5$	0.9992	16	50
水	HPLC-MS/MS	10~200	$Y=2.11 \times 10^8 X + 1.03 \times 10^5$	0.9990	0.02	0.07

表2 多菌灵在豆芽和水中的添加回收率及变异系数( $n=6$ )

Table 2 Average recovery and relative standard deviation of carbendazim in bean sprout and waters ( $n=6$ )

添加水平(mg/kg)	豆芽		添加水平( $\mu\text{g/kg}$ )	水	
	平均回收率(%)	RSD (%)		平均回收率(%)	RSD (%)
0.05	85.7	5.19	0.05	84.2	4.66
0.10	89.1	3.12	0.10	86.7	5.53
0.20	93.6	2.02	0.20	90.4	3.84

表 3 不同浓度处理下豆芽中多菌灵的残留量及降解率( $n=3$ )Table 3 Rate of degradation and residues of carbendazim in bean-sprout by different concentration treated ( $n=3$ )

采收日期(d)	ck		1 mg/L		5 mg/L		10 mg/L		20 mg/L	
	残留量/(mg/kg)	降解率/%	残留量/(mg/kg)	降解率/%	残留量/(mg/kg)	降解率/%	残留量/(mg/kg)	降解率/%	残留量/(mg/kg)	降解率/%
0	0.00	—	0.31±0.04	—	1.56±0.19	—	2.47±0.21	—	3.75±0.27	—
1	0.00	—	0.18±0.02	41.9	1.01±0.12	35.3	1.68±0.15	32.0	2.62±0.31	30.1
2	0.00	—	0.11±0.01	64.5	0.72±0.06	53.8	1.25±0.09	49.4	1.93±0.18	48.5
3	0.00	—	0.07±0.01	77.4	0.49±0.05	68.6	0.89±0.13	64.0	1.51±0.13	59.7
4	0.00	—	0.04±0.006	87.1	0.27±0.02	82.7	0.57±0.07	76.9	1.09±0.16	70.9
5	0.00	—	0.02±0.005	93.5	0.18±0.03	88.5	0.36±0.02	85.4	0.76±0.05	79.7
6	0.00	—	0.01±0.003	96.8	0.11±0.02	92.9	0.28±0.04	88.7	0.53±0.09	85.9
7	0.00	—	ND	—	0.09±0.01	94.2	0.23±0.03	90.7	0.41±0.02	89.1

注: ND 为未检出。

表 4 不同方式培养下豆芽中多菌灵的残留量及降解率( $n=3$ )Table 4 Rate of degradation and residues of carbendazim in bean-sprout by different cultural way ( $n=3$ )

采集日期/d	LD <sub>1</sub>		LD <sub>2</sub>		LD <sub>3</sub>		LD <sub>4</sub>	
	残留量/(mg/kg)	降解率/%	残留量/(mg/kg)	降解率/%	残留量/(mg/kg)	降解率/%	残留量/(mg/kg)	降解率/%
0	2.51±0.22	—	2.47±0.21	—	2.39±0.26	—	2.54±0.25	—
1	1.75±0.16	30.3	1.68±0.15	32.0	1.37±0.15	42.7	1.81±0.16	28.7
2	1.37±0.11	45.4	1.25±0.09	49.4	0.83±0.07	65.3	1.45±0.15	42.9
3	1.03±0.14	59.0	0.89±0.13	64.0	0.46±0.04	80.8	1.14±0.09	55.1
4	0.75±0.06	70.1	0.57±0.07	76.9	0.31±0.05	87.0	0.87±0.01	65.7
5	0.52±0.06	79.3	0.36±0.02	85.4	0.12±0.01	95.0	0.65±0.05	74.4
6	0.43±0.03	82.9	0.28±0.04	88.7	0.05±0.01	97.9	0.54±0.07	78.7
7	0.37±0.04	85.3	0.23±0.03	90.7	0.02±0.006	99.2	0.46±0.05	81.9

运用 IBM SPSS Statistics19 软件, 分别做采收日期、处理浓度、生长温度和喷水量与多菌灵残留量之间的相关性分析。结果显示, 采收日期与不同浓度处理下残留量的皮尔逊系数平均值为-0.940, 在 0.01 水平上显著负相关; 处理浓度与不同采收日期残留量的皮尔逊系数平均值为 0.991, 在 0.05 水平上显著正相关。处理浓度的皮尔逊系数绝对值 0.991 大于采收日期的皮尔逊系数绝对值 0.940, 结果表明: 处理浓度对残留量的影响大于采收日期。在生长温度不同的栽培方式处理下, 采收日期与培养方式 LD<sub>1</sub>、LD<sub>2</sub> 对应残留量的皮尔逊系数分别为-0.950、-0.945; 在喷水量不同的栽培方式处理下, 采收日期与培养方式 LD<sub>2</sub>、LD<sub>3</sub> 对应残留量的皮尔逊系数分别为-0.945、-0.901。根据皮尔逊系数绝对值分析, 栽培方式中的

温度处理对豆芽采收日期多菌灵残留量的影响大于喷水处理。

### 3.7 不确定度评估

根据 CNAS-CL01:2006《检测和校准实验室能力认可准则》中 5.4.6 节和 5.10.3.1C 节的有关规定, 为了确保检测结果的可信度, 必须进行测定不确定度的评定。本文参照文献<sup>[22-24]</sup>的评定过程, 对豆芽中多菌灵残留的测量分别按标准溶液校准过程中引入的不确定度  $u(p)$ 、采用最小二乘法拟合标准工作曲线求得样品浓度过程中引入的不确定度  $u(c)$ 、测试过程重现性引入的不确定度  $u(s)$ 、样品前处理操作过程回收率引入的不确定度  $u(r)$ 、定容体积引入的不确定度  $u(v)$ 、样品称量引入的不确定度  $u(m)$  等 6 个分量进行不确定度分析, 则

表5 多菌灵检测的各相对标准不确定度分量及合成相对标准不确定度

Table 5 Items of relative standard uncertainties and combined relative standard uncertainties for carbendazim detected

	$U_{rel}(p)$	$U_{rel}(m)$	$U_{rel}(c)$	$U_{rel}(v)$	$U_{rel}(f)$	$U_{rel}(s)$	$U_{rel}(w)$
多菌灵	0.0104	0.0016	0.0198	0.0012	0.0215	0.0017	0.0311

## 相对合成不确定度

$$u_{rel} = \sqrt{u_{rel}(p)^2 + u_{rel}(c)^2 + u_{rel}(s)^2 + u_{rel}(f)^2 + u_{rel}(v)^2 + u_{rel}(m)^2}$$

$$= \sqrt{(0.0104)^2 + (0.0198)^2 + (0.0017)^2 + (0.0215)^2 + (0.0012)^2 + (0.0016)^2}$$

$$= 0.0311$$

## 合成不确定度

$$u_c = u_{rel} \times \bar{x} = 0.0311 \times 0.15 = 0.00467 \text{ mg/kg}$$

## 扩展不确定度

取扩展因子  $k=2$ ，则扩展不确定度为  $u=k \times u_c = 0.0093 \text{ mg/kg}$ 。

通过比较各分量对合成相对标准不确定度 ( $U_{rel}(w)$ ) 的贡献, 结果见表5。结果表明: 测定结果的不确定度主要来源于回收率  $u(r)$  (47.69%)、采用最小二乘法拟合标准工作曲线求得样品浓度过程  $u(c)$  (40.44%) 及标准溶液的配制  $u(p)$  (11.16%), 此外, 其它因素 ( $u(s)$ 、 $u(v)$ 、 $u(m)$ ) 的影响均较小。

## 4 结论

多菌灵是一种极性物质, 在不同的 pH 环境下, 会结合不同的基团产生基质效应。本文以乙腈为提取溶剂, 因乙腈与水互溶, 盐析后, 乙腈与水又很容易分层, 且乙腈对糖类、蛋白质和脂肪的溶解性差。采用 QuEChERS 法为前处理方法, 无需经过 SPE 小柱、调节 pH 值等净化过程, 该方法操作简便, 对杂质的去除能够满足定性的要求, 方法重复性和准确性能够满足定量要求, 从而达到提取与净化试样的目的。本方法适用于多菌灵在豆芽及其生产环境水样中的痕量残留分析。

由于测定结果不可避免地存在不确定度<sup>[22]</sup>, 将其应用于测定结果评定中, 对于提高检测结果的质量、降低误判风险具有重要意义<sup>[22,24]</sup>。为了保证测定结果准确可靠, 本文结合本实验室检测方法和实际操作, 对检测豆芽中多菌灵残留的测量不确定度进行了评定, 以期为工厂化豆芽生产与检测提供技术参考。

## 参考文献

[1] 卢业举, 程静, 聂磊. 高效液相色谱法测定水果和蔬菜中多菌

灵残留量[J]. 理化检验(化学分册), 2009, 45 (3): 296-298.

Lu YJ, Cheng J, Nie L. Determination of residual carbendazim in fruits and vegetables by HPLC [J]. PTCA (Part B: Chem Test), 2009, 45 (3): 296-298.

[2] 郭英娜, 姜茁松, 张敏, 等. 固相萃取富集高效液相色谱法测定环境水中多菌灵和噻菌灵[J]. 分析化学, 2005, 33(3): 395-397.

Guo YN, Jiang ZS, Zhang M, *et al.* Determination of carbendazim and thiabendazole in environmental water by solid phase extraction and high performance liquid chromatography [J]. Chin J Anal Chem, 2005, 33(3): 395-397.

[3] De la Huebra MJG, Nieto PHO, Ballester Y, *et al.* Determination of carbendazim in soil samples by anodic stripping voltammetry using a carbon fiber ultra microelectrode [J]. Anal Chem, 2002, 367: 474-478.

[4] Singhal LK, Bagga S, Kumar R, *et al.* Down regulation of humoral immunity in chickens due to carbendazim [J]. Toxicol *In Vitro*, 2003, 17(5-6): 687-692.

[5] Akbarsha MA, Kadalmani B, Girija R, *et al.* Spermatotoxic effect of carbendazim [J]. Indian J Exp Biol, 2001, 39(9): 921-924.

[6] GB 2763-2014 食品中农药最大残留限量[S].  
GB 2763-2014 Maximum residue limits for pesticides in food [S].

[7] GB/T 5009.188-2003 蔬菜、水果中甲基托布津、多菌灵的测定[S].  
GB/T 5009.188-2003 Determination of thiophanatemethyl and carbendazim in vegetables and fruits [S].

[8] 王中, 侯宪文, 邓晓. 多菌灵在香草兰和土壤中的残留动态[J]. 生态环境学报, 2009, 18(2): 535-539.

Wang Z, Hou XW, Deng X. Study on residue dynamics of carbendazim in *Vanilla planifolia* Andrew and soil [J]. Ecol Environ Sci, 2009, 18(2): 535-539.

[9] Boudina A, Emmelin C, Baahiouamer A, *et al.* Photochemical behaviour of carbendazim in aqueous solution [J]. Chemosphere, 2003, 50(5): 649-655.

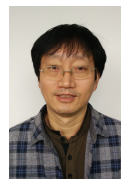
[10] NY/T 1680-2009 蔬菜水果中多菌灵等4种苯并咪唑类农药残留量的测定 高效液相色谱法[S].  
NY/T1680-2009 Determination of carbendazim and other 3 benzimidazoles in vegetable and fruit by HPLC [S].

[11] 沈菁, 刘军, 刘建. 高效液相色谱法测定柑橘和土壤中残留的

- 多菌灵[J]. 色谱, 2009, 27(3): 308-312.
- Shen J, Liu J, Liu J. Determination of carbendazim residue in orange and soil using high performance liquid chromatography [J]. Chin J Chromatogr, 2009, 27(3): 308-312.
- [12] 侯霞, 董学畅, 赵剑宇, 等. 快速分离柱高效液相色谱法测定环境水样中多菌灵和噻菌灵的研究[J]. 云南化工, 2006, 33(6): 49-51.
- Hou X, Dong XC, Zhao JY, *et al.* Determination of carbendazim and thiabendazole from environmental water by rapid column high performance liquid chromatography [J]. Yunnan Chem Technol, 2006, 33(6): 49-51.
- [13] 刘文杰, 万英, 庞新安, 等. 高效液相色谱法同时测定土壤中多菌灵、吡虫啉和甲基托布津的残留[J]. 分析测试学报, 2007, 26(1): 133-135.
- Liu WJ, Wan Y, Pang XA, *et al.* Determination of carbendazim, imidacloprid and thiophanate methyl in soil by high performance liquid chromatography [J]. J Instrum Anal, 2007, 26(1): 133-135.
- [14] Tharsis N, Portillo JL, Broto-puig F, *et al.* Simplified reversed phase conditions for the determination of benzimidazole fungicides in fruits by high-performance liquid chromatography with UV detection [J]. J Chromatogr A, 1997, 778 (1/2): 95-101.
- [15] GB/T 23380-2009 水果、蔬菜中多菌灵残留的测定 高效液相色谱法[S].
- GB/T 23380-2009 Determination of thiophanatemethyl, carbendazim in vegetables and fruits by HPLC [S].
- [16] NY/T 1453-2007 蔬菜及水果中多菌灵等 16 种农药残留测定液相色谱-质谱-质谱联用法[S].
- NY/T 1453-2007 Determination of 16 pesticide residues in fruits and vegetables by LC MS/MS [S].
- [17] Bean KA, Henion JD. Determination of carbendazim in soil and lake water by immunoaffinity extraction and coupled-column liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. J Chromatogr A, 1997, 791(1/2): 119-126.
- [18] 杨楠, 张琦, 权伍英, 等. QuEChERS 前处理方法结合液相色谱-串联质谱技术检测蔬菜中的多菌灵[J]. 中国卫生检验杂志, 2011, (5): 1096-1097.
- Yang N, Zhang Q, Quan WY, *et al.* Determination of carbendazim in vegetables by QuEChERS- liquid chromatography/tandem mass spectrometry [J]. Chin J Health Lab Technol, 2011, (5): 1096-1097.
- [19] Anastassiades M, Lehotay SJ, Stajnbaher D, *et al.* Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and dispersive solid-phase extraction for the determination of pesticide residues in produce [J]. J AOAC Int, 2003, 86(2): 412-431.
- [20] 王一茜, 张广华, 赵学志, 等. 对氯苯氧乙酸钠在绿豆芽中的残留量分析[J]. 食品科技, 2013, 38(10), 316-319.
- Wang YQ, Zhang GH, Zhao XZ, *et al.* Analysis of sodium 4-chlorophenxyacetate residue in mung bean sprouts [J]. Food Sci Technol, 2013, 38(10), 316-319.
- [21] Lehotay SJ, Mastovska K, Lightfield AR. Multi-analyst, multi-matrix performance of the QuEChERS approach for pesticide residues in foods and feeds using HPLC/MS/MS analysis with different calibration techniques [J]. J AOAC Int, 2010, 93(2): 355-367.
- [22] JJF 1059-1999 测量不确定度评定与表示[S].
- JJF 1059-1999 Evaluation and expression of uncertainty in measurement [S].
- [23] JJG 196-2006 常用玻璃量器检定规程[S].
- JJG 196-2006 Verification regulation of working glass container [S].
- [24] 王承忠. 测量不确定度的验证方法及其应用实例[J]. 理化检验(物理分册), 2008, 44(10): 296-298.
- Wang CZ. The method of verification for measurement uncertainty and its applications examples [J]. PTCA (Part A: Phys Test), 2008, 44(10): 296-298.

(责任编辑: 杨翠娜)

## 作者简介



曾志杰, 硕士, 副研究员, 主要研究方向为农产品质量与安全。  
E-mail: zhijiezeng2005@sina.com



刘光明, 博士, 教授, 主要研究方向为水产品加工与安全。  
E-mail: gmliu@jmu.edu.cn