

QuEChERS-三重四极杆气质联用法测定大米中 12 种农药残留量

乔海霞^{1*}, 曹 宁², 蔡可文¹, 刘建洋¹

(1. 山东标准检测技术有限公司, 济南 250100; 2. 中华全国供销合作总社济南果品研究院, 济南 250000)

摘 要: 目的 建立一种采用 QuEChERS 前处理技术结合三重四极杆气质联用法(gas chromatography-triple quadrupole mass spectrometry, GC-MS/MS)同时测定大米中 12 种农药残留量的检测方法。**方法** 样品经乙腈提取、采用无水硫酸镁、C₁₈、乙二胺-*N*-丙基硅烷(primary secondary amine, PSA)作为吸附剂, 净化提取液, 浓缩过滤后的样品用气相色谱质谱联用仪进行检测。**结果** 12 种农药在 0.004~0.40 µg/mL 范围内线性关系良好, 相关系数均大于 0.997。在 0.04、0.08、0.12 mg/kg 3 个加标水平下, 12 种农药的平均回收率为 81.08%~114.50%, 精密度的 0.48%~4.92%(*n*=6), 最低检出限为 0.01 mg/kg。**结论** 该方法样品处理简便、快捷、高效、重复性和稳定性良好, 可用于大米中 12 种农药的定量检测与定性认证。

关键词: 大米; QuEChERS; 三重四极杆气质联用法; 农药残留

Determination of 12 kinds of pesticide residues in rice by QuEChERS-gas chromatography-triple quadrupole mass spectrometry

QIAO Hai-Xia^{1*}, CAO Ning², CAI Ke-Wen¹, LIU Jian-Yang¹

(1. Shandong Standard Testing Technology Co., Ltd., Ji'nan 250100, China; 2. Jinna Fruit Research Institute All China Federation of Supply and Marketing Co Operatives, Ji'nan 250000, China)

ABSTRACT: Objective To establish a method for the simultaneous determination of 12 kinds of pesticide residues in rice by QuEChERS-gas chromatography-triple quadrupole mass spectrometry. **Methods** Samples were extracted by acetonitrile, the extract was purified using anhydrous magnesium sulfate, C₁₈, PSA as adsorbent, and the concentrated and filtered samples were tested by gas chromatography-triple quadrupole mass spectrometry. **Results** The 12 kinds of pesticides had good linear relationship in the range of 0.004-0.40 µg/mL, and the correlation coefficient was greater than 0.997. The recoveries at 3 spiked levels of 0.04、0.08、0.12 mg/kg of 12 pesticides ranged from 81.08% to 114.50%, with the precision from 0.48 to 4.92% (*n*=6). The limit of detection was 0.01 mg/kg. **Conclusion** This method is easy, simple, fast, efficient, good repeatability and stability, which can be used for the quantitative detection and qualitative identification of 12 kinds of pesticides in rice.

KEY WORDS: rice; QuEChERS; gas chromatography-triple quadrupole mass spectrometry; pesticide residues

*通讯作者: 乔海霞, 助理工程师, 主要研究方向为食品安全检测。E-mail: haixiaqh@163.com

*Corresponding author: QIAO Hai-Xia, Assistant Engineer, Shandong Standard Testing Technology Co., Ltd., Ji'nan 250100, China. E-mail: haixiaqh@163.com

1 引言

水稻是我国主要的粮食作物, 大米是我国人民的重要主食, 随着人民生活水平的不断提高, 人们对食品安全问题的重视程度也越来越高。水稻生长需要温暖潮湿的环境, 增大了病虫害发生和杂草生长的几率, 为了保证水稻的产量, 种植者会施用大量的农药, 不仅造成了环境污染, 而且影响了大米的食用安全^[1], 因此, 国家严格规定了大米中农药最大残留限量^[2]。

常用的检测方法对目标农残的提取多采用固相萃取方式, 需要繁琐的人工操作, 同时还消耗大量的有机试剂、固相萃取柱等耗材。QuEChERS(quick, easy, effective, rugged, safe)法是由美国农业部 Anastassiades 教授等^[3]于 2003 年开发的一种快速样品前处理技术, 由于该法具有操作简便快捷、溶剂使用量少等特点, 逐渐发展成为农药残留检测的首选前处理方法。目前对大米中农药残留量的检测方法主要有气相色谱法(gas chromatography, GC)^[4,5]、高效液相色谱法(high performance liquid chromatography, HPLC)^[6]、气相色谱质谱联用法(gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS)^[7-9]、液相色谱质谱联用法(high performance liquid chromatography-mass spectrometry, LC-MS)^[10], 其中最经典的是气相色谱和液相色谱法, 然而这 2 种方法都无法有效排除样品的假阳性干扰, 在出现可疑样品时仍需要用质谱法对其进行验证。气相色谱质谱联用法(gas chromatography-tandem mass spectrometry, GC-MS/MS)抗干扰能力强、准确度高、应用范围广, 能够对多种农药残留进行定性与定量检测, 近年来气质联用法检测农药残留得到广泛认同和应用。

本方法通过优化 MgSO_4 、PSA 和 C_{18} 各吸附剂的使用比例, 结合大米自身特点而加入适量超纯水并采用超声提取法, 保证了大米中各农药残留能够被充分提取, 大大提高了提取效率。采集方法选用 GC-MS/MS 的多反应监测模式(multiple reaction monitoring, MRM), 能够有效排除大量干扰离子, 降低了分析过程中定性结果的假阳性率, 从而实现检测的高灵敏度和高准确度, 以期对大米中多农药残留的检测提供可靠参考。

2 材料与方法

2.1 仪器与试剂

7890B-7000C GC-MS/MS 三重四极杆气质联用仪(美国安捷伦公司); DB-5MS 毛细色谱柱(30 m×250 μm , 0.25 μm , 美国安捷伦公司); ME2002 电子天平(梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司); TGL-20bR 高速冷冻离心机(上海安亭科学仪器厂); G560E 涡旋混合器(美国 Scientific 公司); RE-3000 旋转蒸发仪(上海亚荣生化仪器厂); SB25-12DTD 超声波清洗机(宁波新芝生物科技股份有限公司)。

C_{18} 固相分散净化剂(50 μm , 天津 Agela 公司); 乙二胺-N-丙基硅烷(PSA)固相分散净化剂(40~63 μm , 天津 Agela 公司); 无水 MgSO_4 (分析纯, 国药集团化学试剂有限公司); 氯化钠(分析纯, 国药集团化学试剂有限公司); 乙腈(色谱纯, 美国 Fisher 公司); 乙酸乙酯(分析纯, 国药集团化学试剂有限公司); 丙酮(HPLC 级, 国药集团化学试剂有限公司)。

灭线磷、甲拌磷、二嗪磷、甲基毒死蜱、甲基嘧啶磷、马拉硫磷、毒死蜱、倍硫磷、氟酰胺、三唑磷、联苯菊酯、氯氟氰菊酯农药标准品(浓度均为 100 $\mu\text{g/mL}$, 农业部环境保护科研监测所)。

2.2 实验方法

2.2.1 标准溶液配制

分别取 1.0 mL 上述 12 种农药标准品于 25 mL 容量瓶中, 用丙酮将其各自定容至刻度, 得到浓度均为 4 $\mu\text{g/mL}$ 的混合标准储备液, 保存于 4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱中。以空白大米基质溶液将上述标准储备液稀释成系列浓度混合标准工作液, 浓度分别为 0.004、0.01、0.02、0.04、0.10、0.20、0.40 $\mu\text{g/mL}$, 应现用现配。

2.2.2 样品前处理

(1) 提取: 称取 5 g(精确至 0.01 g)粉碎过筛后的大米样品于 50 mL 具塞离心管中, 加入 10 mL 超纯水, 涡旋混匀, 浸润 20 min, 加入 20 mL 乙腈, 2 g 无水 MgSO_4 , 2 g 氯化钠, 涡旋 1 min, 超声 30 min, 然后于 4000 r/min 下离心 4 min。

(2) 净化: 取乙腈层于预先装入 300 mg 无水 MgSO_4 、100 g PSA、100 g C_{18} 的离心管中, 涡旋混匀 2 min, 于 4000 r/min 下离心 3 min, 取 5.00 mL 上清液旋至近干, 用 5.00 mL 乙酸乙酯复溶, 过 0.45 μm 滤膜后待上机测定。

2.2.3 气相色谱-串联质谱条件

(1) 气相色谱条件

色谱柱: DB-5MS 毛细色谱柱(30 m×250 μm , 0.25 μm); 进样口温度: 280 $^{\circ}\text{C}$; 脉冲不分流进样, 进样量: 1 μL ; 载气: 高纯氦气, (纯度 $\geq 99.999\%$), 流量: 1.0 mL/min; 色谱柱温度: 初始温度 60 $^{\circ}\text{C}$ (保持 1 min), 以 40 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升至 170 $^{\circ}\text{C}$, 继续以 30 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升至 280 $^{\circ}\text{C}$, 再以 10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升至 310 $^{\circ}\text{C}$ (保持 2 min)。

(2) 质谱条件

电离方式电子轰击电离(electron impact, EI); 电子能量 70 eV; 离子源温度 230 $^{\circ}\text{C}$; 四极杆温度 150 $^{\circ}\text{C}$; 质谱接口温度 280 $^{\circ}\text{C}$; 多反应监测模式(multiple reaction monitoring, MRM)。农药组分保留时间及 MRM 参数见表 1。

3 结果与分析

3.1 提取溶剂的选择

GB 2763-2016 中推荐该 12 种农药残留适用于谷物的检测方法有 GB/T 5009.20-2003^[11], 提取溶剂为丙酮; GB/T

5009.145-2003^[12], 提取溶剂为丙酮; GB/T 5009.107-2003^[13], 提取溶剂为丙酮; NY/T 761-2008^[14], 提取溶剂为乙腈; GB 23200.9-2016^[15]提取溶剂为乙腈。因为丙酮具有与水混溶、挥发性极强的特点, 作为提取溶剂难以与水完全分离, 会提取过多的水分及脂肪物质, 难以净化, 影响实验效果。而乙腈有优良的溶剂性能, 对色素、脂肪等非极性成分的提取能力较弱, 可较大程度的提取样品中的目标农药, 且对目标农药的干扰性小, 故选择乙腈作为提取溶剂。为能够充分提取目标物质, 在提取前加入适量的水, 通过查阅相关文献得知, 加入适量的氯化钠, 通过氯化钠的盐析作用能够使乙腈相和水相完全相分离, 提高萃取效率, 达到良好的提取效果^[16]。

3.2 净化条件的选择

本方法采用 GC-MS/MS 检测农药残留, 杂质峰对目标化合物的干扰相对较小, 但为保证仪器的检测灵敏度和准确性, 样品需经净化再上机。QuEChERS 法常用的净化剂有 PSA(乙二胺-*N*-丙基硅烷)、C₁₈、石墨化炭黑

(graphitized carbon black, GCB)和无水 MgSO₄。PSA 广泛用于植物农残分析样品的处理, 去除极性的有机酸、一些糖类和脂类, 对农药残留物没有吸附作用。C₁₈ 主要对脂肪等非极性成分有较强的吸附力, 能起到良好的净化效果。GCB 主要用来去除色素, 但针对大米基质含色素少, 不需采用 GCB 净化也能有良好的提取效果。无水 MgSO₄ 主要用来除水, 提高提取效率^[17]。本方法选用 PSA、C₁₈ 作为净化剂, 无水 MgSO₄ 作为除水剂, 三者使用比例为 PSA:C₁₈:无水 MgSO₄=3:1:1(V:V:V)。

3.3 色谱-质谱条件的优化

为提高定量和定性的准确度, 从 MRM 数据库中选取前 3 对离子对及对应的碰撞能量, 通过对空白大米基质的色谱和质谱图分析, 以及结合各农药化合物的离子对质谱图, 根据各离子的丰度大小及干扰程度, 确定 3 组离子对的定性或定量作用。通过不断优化升温程序, 使 12 种农药残留能得到较好的分离, 且峰型尖锐对称, 优化后的总离子流色谱图见图 1。

表 1 农药组分保留时间及 MRM 参数
Table 1 Retention time of pesticide components and MRM parameters

农药中英文名称	保留时间/min	定量离子对(碰撞电压/V)	定性离子对(碰撞电压/V)	定性离子对(碰撞电压/V)
灭线磷(ethoprophos)	6.013	157.9/97.0(15)	157.9/114(5)	138.9/97(5)
甲拌磷(phorate)	6.222	121.0/65.0(10)	121/47(30)	128.9/65(15)
二嗪磷(diazinon)	6.475	137.1/84.0(10)	137.1/54(20)	199.1/93(15)
甲基毒死蜱(chlorpyrifos-methyl)	6.880	285.9/92.9(20)	124.9/47(15)	124.9/78.9(5)
甲基嘧啶磷(pirimiphos-methyl)	6.997	290.0/125.0(20)	232.9/151(5)	304.9/180(5)
马拉硫磷(malathion)	7.070	126.9/99.0(5)	157.8/125(5)	172.9/99(15)
毒死蜱(chlorpyrifos)	7.156	196.9/169.0(15)	198.9/171(15)	313.8/257.(15)
倍硫磷(fenthion)	7.201	124.9/47.0(10)	278/109(15)	124.9/79(5)
氟酰胺(flutolanil)	7.758	173.0/145.1(15)	280.9/173(10)	173/95(30)
三唑磷(triazophos)	8.282	161.2/134.2(5)	161.2/106.1(10)	161.2/91(15)
联苯菊酯(bifenthrin)	8.712	181.2/165.2(25)	181.2/166.2(10)	166.2/165.2(20)
氯氟氰菊酯(cyhalothrin)	9.181	208.0/181.0(5)	197/141(10)	181/152(25)

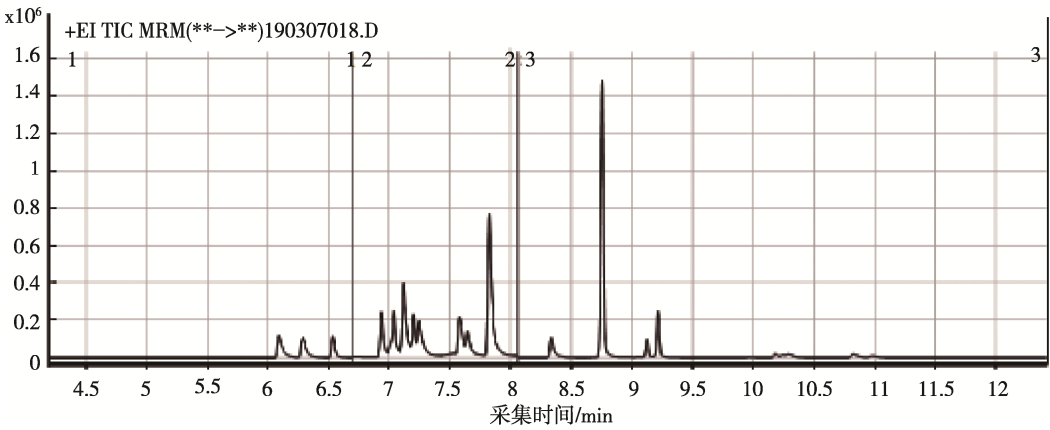


图 1 12 种农药的总离子流色谱图

Fig. 1 Total ion flow chromatography of 12 kinds of pesticides

3.4 方法学验证

3.4.1 线性关系

为提高定量的准确度, 减少基质干扰, 本方法用空白基质溶液配制系列混合农药标准溶液, 以质量浓度(X, $\mu\text{g/mL}$)作为横坐标, 峰面积(Y)作为纵坐标, 绘制标准曲线, 结果表明, 待测农药在 0.004~0.40 $\mu\text{g/mL}$ 范围内呈良好的线性关系, 线性相关系数均在 0.997 之上, 各农药的线性范围、线性方程及相关系数见表 2。

3.4.2 加标回收率、精密度和检出限

以空白基质配制标准溶液外标法定量, 在空白大米样品中添加不同水平的农药混标, 设置 3 个不同添加浓度, 进

行加标回收实验, 加标浓度分别为 0.04、0.08、0.12 mg/kg , 计算平均回收率, 每个浓度平行测定 6 次, 计算精密度。结果显示 12 种农药加标回收率为 81.08%~114.50%, 精密度 (relative standard deviation, RSD) 为 0.48%~4.92%, 回收率和精密度均满足日常检测工作的需要(见表 3)。以加标样品信噪比 $S/N \geq 3$ 时的加标浓度计算检出限, 12 种农药的检出限均能达到 0.01 mg/kg , 本方法的灵敏度可满足分析要求。

3.5 实际样品的测定

采用本研究建立的方法对 12 份大米样品(包含稻花香大米 4 份、福临门大米 4 份、金龙鱼大米 4 份)进行分析实验, 均未检出上述 12 种农药残留。

表 2 12 种农药的线性范围、线性方程和相关系数 r^2
Table 2 Linear range, linear equation and correlation coefficient of 12 pesticides

农药名称	线性范围/ $(\mu\text{g/mL})$	线性方程	相关系数 r^2
灭线磷	0.004~0.40	$Y=434122.102079X+303.692757$	0.9996
甲拌磷	0.004~0.40	$Y=508757.251136X+996.763488$	0.9997
二嗪磷	0.004~0.40	$Y=209900.336581X-168.144548$	1.0000
甲基毒死蜱	0.004~0.40	$Y=226121.808590X+616.110352$	0.9993
甲基嘧啶磷	0.004~0.40	$Y=187906.874291X-26.361024$	0.9998
马拉硫磷	0.004~0.40	$Y=461357.306553X+3350.473051$	0.9974
毒死蜱	0.004~0.40	$Y=363380.980029X-232.157602$	0.9998
倍硫磷	0.004~0.40	$Y=488756.187847X-553.537041$	0.9997
氟酰胺	0.004~0.40	$Y=2837167.752330X+3196.325351$	0.9996
三唑磷	0.004~0.40	$Y=434122.102079X+303.692757$	0.9982
联苯菊酯	0.004~0.40	$Y=2698963.070418X+1876.734606$	0.9997
氯氟氰菊酯	0.004~0.40	$Y=365803.797306X-498.478563$	0.9999

表 3 12 种农药的加标回收率和相对标准偏差($n=6$)
Table 3 Standard recovery and relative standard deviation of 12 kinds of pesticides($n=6$)

农药名称	0.04 mg/kg		0.08 mg/kg		0.12 mg/kg	
	平均回收率/%	RSD/%	平均回收率/%	RSD/%	平均回收率/%	RSD/%
灭线磷	103.00	1.84	90.83	1.50	94.72	1.01
甲拌磷	106.50	2.71	81.08	1.72	92.17	3.61
二嗪磷	108.17	2.44	98.00	1.61	102.17	1.81
甲基毒死蜱	104.17	3.12	93.50	3.24	92.39	3.16
甲基嘧啶磷	106.33	3.29	95.92	1.25	95.11	2.08
马拉硫磷	98.83	3.47	93.75	1.30	91.28	1.45
毒死蜱	109.67	2.13	103.42	1.45	100.22	0.75
倍硫磷	103.17	4.92	93.67	4.35	91.50	2.92
氟酰胺	103.33	3.28	100.17	1.96	91.83	1.07
三唑磷	100.17	3.12	93.67	1.64	86.67	2.95
联苯菊酯	114.50	0.73	114.00	0.48	107.78	1.01
氯氟氰菊酯	109.17	1.96	105.92	1.44	98.06	1.42

4 结 论

本研究采用 QuEChERS 法结合三重四极杆气质联用仪同时检测大米中 12 种农药残留, 该法具有操作简单, 高效环保且节约成本的特点, 三重四极杆串联质谱法能有效避免杂质的干扰, 减少假阳性的检出率, 确保检测结果的准确可靠。通过对数据的分析可知, 12 种农药在 0.004~0.40 $\mu\text{g/mL}$ 范围内, 线性关系良好, 相关系数均大于 0.997, 加标回收率在 81.08%~114.50% 范围内, 该法能保证检测结果的准确性和稳定性, 完全能适用于大米中农药残留的检测工作。

参考文献

- [1] 秦德萍. QuEChERS-气相色谱法测定大米中 7 种有机磷农药残留[J]. 中国粮油学报, 2017, 32(12): 122-125.
- [2] Qin DP. Determination of 7 organic phosphorus pesticides in rice by QuEChERS-gas chromatography [J]. J Chin Cere Oils Ass, 2017, 32(12): 122-125.
- [3] GB 2763-2016 食品安全国家标准 食品中农药最大残留限量[S].
- [4] GB 2763-2016 National food safety standard-Maximum residue limits for pesticide food [S].
- [5] 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.
- [6] 熊小青, 叶琴. QuEChERS 法测定大米中有机磷类多农残[J]. 食品研究与开发, 2010, 31(12): 178-180.
- [7] Xiong XQ, Ye Q. Determination of multiple organophosphorus pesticide residues in rice by QuEChERS method [J]. Food Res Dev, 2010, 31(12): 178-180.
- [8] 邵琳, 李福敏, 杨丽芬, 等. QuEChERS-气相色谱法同时测定大米中 10 种有机磷农药残留量[J]. 食品安全质量检测学报, 2018, 9(11): 2825-2829.
- [9] Shao L, Li FM, Yang LF, et al. Simultaneous determination of 10 kinds of organophosphorus pesticide residues in rice by QuEChERS-gas chromatography [J]. J Food Saf Qual, 2018, 9(11): 2825-2829.
- [10] 林维宣, 田苗. 双柱固相萃取-高效液相色谱法测定大米中氨基甲酸酯农药残留量的研究[J]. 中国粮油学报, 2003, 18(2): 79-84.
- [11] Lin WX, Tian M. Determination of carbamate pesticide residues in rice by high performance liquid chromatography with double column solid phase extraction [J]. J Chin Cere Oils Ass, 2003, 18(2): 79-84.
- [12] 赵祥梅, 董英, 王和生, 等. QuEChERS-气-质联用法检测大米中 12 种农药残留物[J]. 中国食品学报, 2010, 10(2): 214-220.
- [13] Zhao XM, Dong Y, Wang HS, et al. 12 kinds of QuEChERS-GC-MS detection of pesticide residues in rice [J]. J Chin Inst Food Sci Technol, 2010, 10(2): 214-220.
- [14] 潘碧枢, 胡蒙艳. 基于 QuEChERS 的三重四极杆气质联用法测定杨梅中 19 种农药残留[J]. 预防医学, 2018, 30(8): 861-864.
- [15] Pan BX, Hu MY. Determination of 19 kinds of pesticide residues in arbutus by gas chromatography-triple quadrupole mass spectrometry method based on QuEChERS [J]. Prev Med, 2018, 30(8): 861-864.
- [16] 吴延灿, 商鲁宁, 戚传勇, 等. QuEChERS-气相色谱-串联质谱法测定香菇中 29 种农药残留[J]. 食品安全质量检测学报, 2017, 8(9): 3593-3600.
- [17] Wu YC, Shang LN, Qi CY, et al. Determination of 29 pesticide residues in lentinus edodes by QuEChERS- gas chromatography-tandem mass spectrometry [J]. J Food Saf Qual, 2017, 8(9): 3593-3600.
- [18] 黄兰洪, 陈秀, 张正炜, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法同时检测大米中 15 种常用农药的残留[J]. 农药学报, 2018, 20(3): 354-362.
- [19] Huang LQ, Chen X, Zhang ZW, et al. Determination of 15 common pesticides residues in rice by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. J Pestic Sci, 2018, 20(3): 354-362.
- [20] GB/T 5009.20-2003 食品中有机磷农药残留量的测定[S].
- [21] GB/T 5009.20-2003 Determination of organophosphorus pesticides residues in food [S].
- [22] GB/T 5009.145-2003 植物性食品中有机磷和氨基甲酸酯类农药多种残留的测定[S].
- [23] GB/T 5009.145-2003 Determination of organophosphorus and carbamate pesticide multiresidues in vegetable foods [S].
- [24] GB/T 5009.107-2003 植物性食品中二嗪磷残留量的测定[S].
- [25] GB/T 5009.107-2003 Determination of diazinon residues in vegetable foods [S].
- [26] NY/T 761-2008 蔬菜和水果中有机磷、有机氯、拟除虫菊酯和氨基甲酸酯类农药多残留的测定[S].
- [27] NY/T 761-2008 Pesticide multiresidue screen methods for determination organophosphorus pesticides, organochlorine pesticides, pyrethroid pesticides and carbamate pesticides in vegetables and fruits [S].
- [28] GB 23200.9-2016 食品安全国家标准 粮食中 475 种农药及相关化学药品残留量测定 气相色谱-质谱法[S].
- [29] GB 23200.9-2016 National food safety standard, Determination of 475 pesticides and related chemicals residues in cereals-Gas chromatography-mass spectrometry [S].
- [30] 聂鲲. LC-MS/MS 测定大米中噻虫嗪农药残留[J]. 食品研究与开发, 2016, 37(6): 166-168.
- [31] Nie K. Determination of thiamethoxam pesticide residues in rice by LC-MS/MS [J]. Food Res Dev, 2016, 37(6): 166-168.
- [32] 孙长花, 于智勇, 王君, 等. 基于 QuEChERS-气相色谱-串联质谱法检测大米中多农药残留[J]. 江苏农业科学, 2017, 45(23): 191-193.
- [33] Sun CH, Yu ZY, Wang J, et al. Determination of multiple pesticide residues in rice QuEChERS-gas chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Jiangsu Agric Sci, 2017, 45(23): 191-193.

(责任编辑: 武英华)

作者简介



乔海霞, 助理工程师, 主要研究方向为食品安全检测。
E-mail: haixiaqh@163.com