

基于 *N*-丙基乙二胺键合硅胶和十八烷基键合硅胶的 QuEChERS-气相色谱-质谱法检测酥油中的 8 种有机磷农药残留

王 军, 扎西次旦, 黄利英, 白军平, 张飞龙, 代艳娜*

(西藏自治区农牧科学院农业质量标准与检测研究所, 拉萨 850032)

摘 要: **目的** 建立一种基于 *N*-丙基乙二胺键合硅胶(primary secondary amine, PSA)和十八烷基键合硅胶(C_{18} -bonded zirconium rubber, Z-sep+)为净化材料的 QuEChERS-气相色谱-质谱法检测酥油中的 8 种有机磷农药残留的分析方法。**方法** 使用乙腈对样品中的农药残留进行提取, 以 PSA 和 Z-sep+为 QuEChERS 净化材料, 对提取液中的干扰物质进行去除, 净化后的样品进气相色谱-质谱联用仪检测。**结果** 在线性范围 10~500 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 内, 目标定量离子峰面积与相应浓度呈良好的线性关系, 相关系数 $r>0.99$, 检出限(limit of detection, LODs)为 1.08~7.16 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 定量限(limit of quantitation, LOQs)为 3.59~23.86 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 以 25、100 和 500 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 浓度水平添加回收率为 73.6~113.1%, 相对标准偏差(relative standard deviation, RSD)位于 5.1~17.2%, 日内精密度和日间精密度满足实验要求。**结论** 该方法快速、准确、灵敏, 适合测定酥油中有机磷农药残留。

关键词: 酥油; 净化剂; 气相色谱-质谱法; 有机磷农药

Determination of 8 kinds of organophosphorus pesticide residues in butter by QuEChERS-gas chromatography-mass spectrometry based on primary secondary amine and C_{18} -bonded zirconium rubber

WANG Jun, ZHAXI Ci-Dan, HUANG Li-Ying, BAI Jun-Ping, ZHANG Fei-Long, DAI Yan-Na*

(Institute of Agricultural Product Quality Standard and Testing Research, Tibet Academy of Agricultural and Animal Husbandry Sciences, Lhasa 850032, China)

ABSTRACT: Objective To establish a method for the determination of 8 organophosphorus pesticide residues in butter by QuEChERS-gas chromatography-mass spectrometry based on PSA (primary secondary amine) and Z-sep+ (C_{18} -bonded zirconium rubber) as clean-up materials. **Methods** After the pesticide residues were extracted by acetonitrile, PSA and Z-sep+ were used as QuEChERS clean-up agents to remove the interfering substances in the extract, and the purified samples were detected by GC-MS. **Results** In the linear range of 10~500 $\mu\text{g}/\text{kg}$, the peak area of the target quantitative ion had good linear relationship with the corresponding concentration $r>0.99$, LODs (limit of detection) were 1.08~7.16 $\mu\text{g}/\text{kg}$, LOQs (limit of quantitation) were 3.59~23.8 $\mu\text{g}/\text{kg}$, the recoveries were 73.6~113.1% at the concentration of 25, 100 and 500 $\mu\text{g}/\text{kg}$, and the

基金项目: 西藏自治区科技厅重点研发与转化项目(XZ201801NB07); 西藏自治区财政预算内项目(XZNKY-2019-C-029)

Fund: Supported by the Key Research and Transformation Project of Department of Science and Technology of Tibet (XZ201801NB07) and the Financial Budget of Tibet (XZNKY-2019-C-029)

*通讯作者: 代艳娜, 助理研究员, 主要研究方向为农产品质量安全检测。E-mail: 1156416369@qq.com

*Corresponding author: DAI Yan-Na, Assistant Professor, Institute of Agricultural Product Quality Standard and Testing Research, Tibet Academy of Agricultural and Animal Husbandry Sciences, Lhasa 850032, China. E-mail: 1156416369@qq.com

RSDs were 5.1–17.2%. The intra-day precision and inter-day precision met the experimental requirements. **Conclusion** This method is rapid, accurate, sensitive and suitable for the determination of organophosphorus pesticide residues in butter.

KEY WORDS: butter; cleaning agent; gas chromatography-mass spectrometry; organophosphorus pesticide

1 引言

酥油是藏族同胞的传统食品,在我国食用酥油年消耗 10 万吨以上,同时酥油工业化生产量较低,绝大部分为传统加工产品,农牧民食用的酥油多数为自家制作^[1]。然而截止目前,关于西藏酥油质量安全的研究报道较少,对农户及工厂 2 种来源酥油的卫生、品质状况不清楚,仍存在很大的质量安全隐患。有机磷类农药(organophosphorus pesticide residues, OPPs)是一类传统的人工合成杀虫剂,在农业生产中被广泛使用,农药使用后可以在水体和土壤中存在^[2,3]。牛食用受污染的饲料和水,通过代谢后牛奶中可能含有农药残留^[4,5]。酥油是牛奶中提取出来的重要食品,它是脂肪、维生素和矿物质的良好来源。同时,农药脂溶性的特点将使其在牛奶提取酥油的过程中富集。因此,酥油中农药残留物的污染是一个需要重点关注的问题。

QuEChERS(quick, easy, cheap, effective, rugged, safety)方法是 2003 年美国农业部开发的一种快速、简便、廉价、有效、可靠和安全的农药残留分析前处理方法^[6],该方法自提出以来受到了研究者的广泛关注^[7–10]。在 QuEChERS 方法中,常用的净化材料为十八烷基键合硅胶(C_{18})、*N*-丙基乙二胺键合硅胶(primary secondary amine, PSA)和石墨化碳黑(graphitized carbon black, GCB)^[11],但这些材料对富含脂肪的复杂基质样品的净化效果不理想^[12,13]。二氧化锆基(C_{18} -bonded zirconium rubber, Z-sep+)净化材料是近年来发展的新型净化材料,能够有效吸附脂类,特别适用于脂肪含量高的复杂基质样品^[14–16]。本研究开发了一种以 PSA 和 Z-sep+为 QuEChERS 净化材料的改进方法,PSA 能够有效去除样品基质中的有机酸、金属离子和少量色素等,Z-sep+能够有效去除乙腈提取液中的脂类和蜡状物等干扰物质,两者组合使用并结合气相色谱-质谱联用仪检测了酥油中 8 种农业生产中广泛使用的有机磷农药,展示了相对新型的二氧化锆基净化材料对复杂基质的净化效果。本方法能够对酥油中 8 种有机磷农药进行准确可靠的监测,对于有机磷农药污染治理和保障酥油食品安全具有重要的现实意义。

2 材料与方法

2.1 材料与试剂

市售酥油:购于拉萨市八一路农贸市场。

二噻磷、甲基对硫磷、杀螟硫磷、马拉硫磷、对硫磷、水胺硫磷、三唑磷和伏杀硫磷标准品(1000 mg/L,天津农业部环境质量监督检验测试中心);PSA(40 μ m,美国 Agilent 公司);Z-sep+(美国 Sigma-Aldrich 公司);无水硫酸镁、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);高纯氮气($\geq 99.999\%$,拉萨尚宝实验耗材经

营部);超纯水:A10 Milli-Q 去离子水发生器制备。

2.2 仪器与设备

7890AQ-5977D 气相色谱串联质谱仪、HP-5MS 毛细管色谱柱(30 m $\times$ 0.25 mm, 0.25 μ m, 美国 Agilent 公司);H1650 高速离心机(湖南湘仪实验仪器开发有限公司),A10 Milli-Q 去离子水发生器(美国 Millipore 公司)。

2.3 实验方法

2.3.1 色谱条件

色谱柱:HP-5 MS 色谱柱(规格:30 m $\times$ 250 μ m, 0.25 μ m);载气:氦气;载气流速:1.2 mL/min;进样口温度:270 $^{\circ}$ C;进样量:1.0 μ L。升温程序:起始温度 80 $^{\circ}$ C,保持 1 min,以 15 $^{\circ}$ C/min 的速率升温至 185 $^{\circ}$ C,保持 5 min,继续以 15 $^{\circ}$ C/min 的速率升温至 270 $^{\circ}$ C,保持 5 min。

2.3.2 质谱条件

离子源:EI 源;离子源温度:230 $^{\circ}$ C;质谱传输线温度:280 $^{\circ}$ C;四级杆温度:150 $^{\circ}$ C;进样量:1 μ L;电离能量:70 eV;多反应监测;溶剂延迟:5 min。

2.3.3 溶液配制

标准单标储备溶液:分别取 1000 mg/L 的二噻磷、甲基对硫磷、杀螟硫磷、马拉硫磷、对硫磷、水胺硫磷、三唑磷和伏杀硫磷标准溶液各 1.0 mL,置于 10 mL 容量瓶中,加乙腈定容,可得各农药目标物规格为 100 mg/L 的标准单标储备溶液。

标准混合储备溶液:分别精密移取 100 mg/L 的各农药标准溶液 1.0 mL,置 10 mL 容量瓶中,用乙腈定容,各农药目标物的浓度均为 10 mg/L。

标准曲线溶液:用乙腈稀释配制系列工作曲线混合溶液,使各农药目标物的浓度依次为 0.02、0.05、0.1、0.2、0.5 mg/L,备用。

2.3.4 样品前处理

取酥油 1 g,置于 25 mL 带盖塑料离心管中,加入 1 mL 水、1 g 氯化钠和 1 g 无水硫酸镁,再加乙腈 10 mL,升温至约 50 $^{\circ}$ C,待酥油融化后,剧烈振荡 1 min,以 10000 r/min 的速度高速离心 3 min,转移上层乙腈提取液置含有 1 g 无水硫酸镁的 20 mL 塑料离心管中,振荡 1 min,静止待无水硫酸镁沉降后,取上清液 1 mL 置装有 50 mg PSA 和 20 mg Z-sep+净化吸附剂的 5 mL 塑料离心管中,振荡 3 min 后,在 5000 r/min 条件下离心 3 min,取 1 μ L 上清液经 0.22 μ m 有机滤膜过滤后,置进样瓶中,上机分析。

3 结果与分析

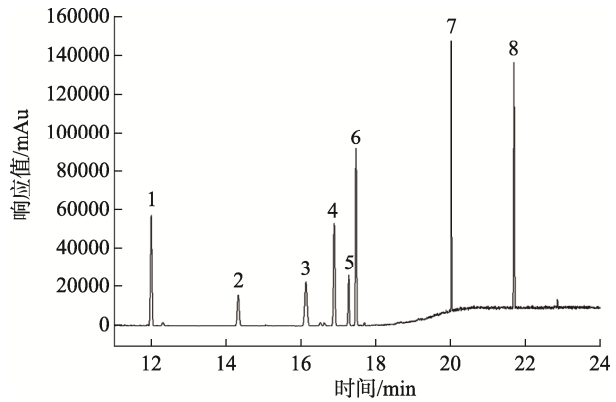
3.1 定性定量离子的确定

以乙腈为溶剂,配制 8 种农药目标物浓度为 1.0 mg/L 的

单标溶液, 首先采用全扫描模式, 得到各杀菌剂对应的母离子和碎片离子, 根据碎片离子的丰度, 选择 1 个定量离子和 2 个定性离子, 各目标物的定性定量离子对见表 1。典型 8 种农药目标物标准色谱图、样品加标谱图及样品谱图见图 1、图 2、图 3。

表 1 8 种有机磷农药的质谱参数
Table 1 Mass spectrum parameters of 8 kinds of organophosphorus pesticide

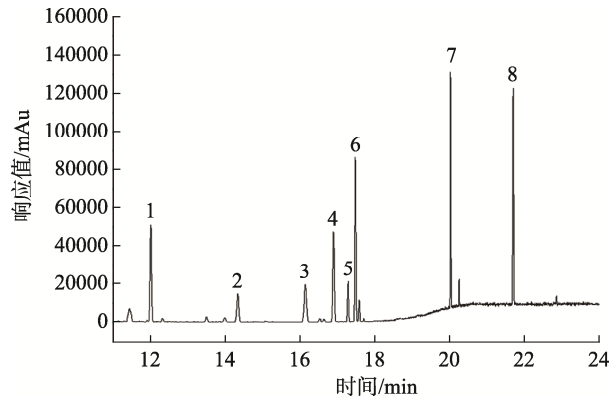
序号	化合物	保留时间/min	定量离子(m/z)	定性离子 1(m/z)	定性离子 2(m/z)
1	二嗪磷	11.81	179.1	137.1	304.0
2	甲基对硫磷	13.77	263.0	109.0	246.0
3	杀螟硫磷	15.28	277.0	125.0	260.1
4	马拉硫磷	16.03	173.1	158.0	143.1
5	对硫磷	16.68	291.0	235.0	186.0
6	水胺硫磷	17.12	136.0	230.0	289.0
7	三唑磷	22.67	161.0	172.1	207.0
8	伏杀硫磷	24.65	182.0	367.0	154.1



注: 1. 二嗪磷; 2. 甲基对硫磷; 3. 杀螟硫磷; 4. 马拉硫磷; 5. 对硫磷; 6. 水胺硫磷; 7. 三唑磷; 8. 伏杀硫磷。

图 1 标准色谱图

Fig.1 Standard chromatogram



注: 1. 二嗪磷; 2. 甲基对硫磷; 3. 杀螟硫磷; 4. 马拉硫磷; 5. 对硫磷; 6. 水胺硫磷; 7. 三唑磷; 8. 伏杀硫磷。

图 2 样品加标色谱图

Fig.2 Sample chromatogram with standard addition

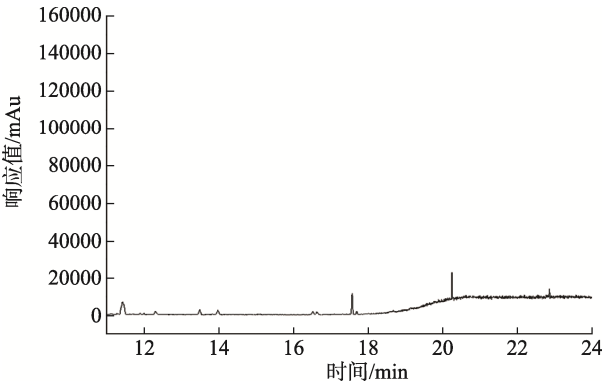


图 3 样品色谱图

Fig.3 Sample chromatogram

3.2 净化材料使用量的选择

参照中华人民共和国农业行业标准 NY/T 1380-2007《蔬菜水果中 51 种农药多残留的测定气相色谱-质谱法》^[17], PSA 的用量一般为 50 mg 处理 1 mL 乙腈提取液, 因此本工作选择 50 mg 为 PSA 的使用量; 参照文献^[15]中 Z-sep+ 吸附剂的用量, 本工作选择 20 mg 为 Z-sep+ 的使用量。以 50 mg 的 PSA 和 20 mg 的 Z-sep+ 组合使用, 作为净化材料来处理加标后的酥油样品, 满足检测要求。

3.3 线性范围、线性关系、检出限和定量限

将 2.3.3 配制的系列混合标准溶液, 依次进样测定, 以各组分定量离子的色谱图峰面积定量, 绘制各组分工作曲线。结果如表 2 所示, 在线性范围 10~500 $\mu\text{g/kg}$ 内, 目标物质定量离子峰面积 Y 与相应溶液浓度 X 呈良好的线性关系, 相关系数 r 为 0.9972~0.9992, 均大于 0.99。该方法中目标农药的检出限(limit of detection, LODs)为 1.08~7.16 $\mu\text{g/kg}$, 定量限(limit of quantitation, LOQs)为 3.59~23.86 $\mu\text{g/kg}$, 现行有效的 GB 23200.91-2016《食品安全国家标准动物源性食品中 9 种有机磷农药残留量的测定气相色谱法》中推荐方法测得动物源食品中 9 种有机磷农药的定量限为 10~50 $\mu\text{g/kg}$, 在 GB 23200.93-2016《食品安全国家标准食品中有机磷农药残留量的测定气相色谱-质谱法》中, 测得多种动物源食品中 10 种有机磷农药的定量限为 20~100 $\mu\text{g/kg}$, 本工作所获得的酥油中 8 种有机磷农药的定量限均低于现行标准, 说明该方法能够满足酥油中有机磷农药残留的检测要求。

3.4 准确度和精密度

向未检出农药残留的空白酥油样品中添加 25、100、500 $\mu\text{g/kg}$ 共 3 个浓度水平的 8 种有机磷混合标准溶液, 按本研究 2.3.4 前处理方法进行处理, 平行测定 6 次, 测定结果见表 3。由表 3 可见, 低、中、高 3 个加标浓度水平下, 该方法中目标农药的回收率处于 73.6%~113.1%, 相对标准偏差(relative standard deviation, RSD)处于 5.1%~17.2%, 说明本工作所建方法具有良好的准确度和精密度, 能够满足

酥油中 8 种有机磷农药的检测要求。

3.5 实验方法重现性

通过测定日内精密度和日间精密度来评价该方法的重现性, 在同一天内不同时间段进行 3 次测试, 获得日内精密度, 连续 3 d 以上测试获得日间精密度。用酥油不同加标浓度的农药回收率进行相对标准偏差计算。如表 4 所

示, 日内和日间的相对标准偏差分别小于 13.7%和 11.9%, 说明该方法的重现性好。

3.6 实际样品分析

从拉萨市八一路农贸市场采购了 10 份酥油样品, 用本方法对其中的 8 种有机磷农药进行检测, 未检出目标有机磷农药。

表 2 目标物的线性方程、线性范围、相关系数、检出限和定量限
Table 2 The equations of standard curve, linear range, correlation coefficient, LOD and LOQ of the targets

序号	目标物	曲线方程	线性范围/(μg/kg)	相关系数 <i>r</i>	LOD/(μg/kg)	LOQ/(μg/kg)
1	二嗪磷	Y=17.6081X-407.8869	10~500	0.9987	1.09	3.63
2	甲基对硫磷	Y=5.2821X-81.9063	25~500	0.9985	7.16	23.86
3	杀螟硫磷	Y=6.2452X-120.8762	20~500	0.9972	3.52	11.73
4	马拉硫磷	Y=9.3661X-204.2489	20~500	0.9982	4.87	16.23
5	对硫磷	Y=5.1925X-67.2432	20~500	0.9991	5.82	19.39
6	水胺硫磷	Y=8.6338X-178.7901	10~500	0.9983	2.69	8.96
7	三唑磷	Y=7.9236X-103.3687	10~500	0.9992	2.98	9.93
8	伏杀硫磷	Y=10.1978X-196.4203	10~500	0.9985	1.08	3.59

表 3 各组分回收率和相对标准偏差(n=6)
Table 3 Recovery and relative standard deviation of 8 OPPs (n=6)

序号	目标物	回收率±RSD/%		
		25/(μg/kg)	100/(μg/kg)	500/(μg/kg)
1	二嗪磷	105.1±14.9	96.1±6.9	86.1±9.3
2	甲基对硫磷	88.1±16.7	113.1±13.2	92.1±8.7
3	杀螟硫磷	99.2±17.2	94.3±10.7	85.2±12.2
4	马拉硫磷	105.1±7.0	103.2±9.2	106.1±11.0
5	对硫磷	91.1±15.9	97.1±15.6	105.1±9.4
6	水胺硫磷	87.2±16.1	83.9±14.8	82.2±17.1
7	三唑磷	89.2±12.4	92.9±12.1	87.2±10.4
8	伏杀硫磷	73.6±16.8	86.3±5.1	93.3±12.8

表 4 方法日内精密度和日间精密度(n=3)
Table 4 The Intra-day precision and Inter-day precision of this method (n=3)

序号	目标物	日内精密度(RSD/%)			日间精密度(RSD/%)		
		25/(μg/kg)	100/(μg/kg)	500/(μg/kg)	25/(μg/kg)	100/(μg/kg)	500/(μg/kg)
1	二嗪磷	5.4	4.5	5.9	6.3	9.8	5.8
2	甲基对硫磷	13.7	7.2	6.7	8.9	7.0	9.8
3	杀螟硫磷	6.2	6.8	4.9	9.7	6.2	5.2
4	马拉硫磷	10.8	4.3	7.2	10.3	4.1	6.3
5	对硫磷	9.1	7.1	5.1	10.4	5.6	4.9
6	水胺硫磷	6.7	4.4	8.6	6.9	4.6	6.8
7	三唑磷	11.8	7.7	9.8	9.3	6.7	10.1
8	伏杀硫磷	10.2	6.9	6.2	11.9	7.6	7.8

4 结论与讨论

本研究以 PSA 和 Z-sep+ 为 QuEChERS 净化吸附材料, 利用其对脂类化合物高吸附的特点并通过优化质谱条件, 建立了基于 PSA 和二氧化锆基净化材料的 QuEChERS-气相色谱-质谱的方法, 用于检测酥油中的 8 种有机磷农药残留。该方法的准确度和精密度等均完全能够满足日常酥油中 8 种有机磷农药检测的要求, 为复杂基质样品中的农药残留检测提供了新的科学依据。

参考文献

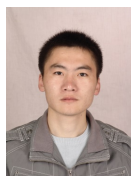
- [1] 谭大明, 吴雪莲, 邱城, 等. 西藏自治区酥油、糌粑、青稞酒、风干牛肉质量安全调研[J]. 现代农业科技, 2011, (2): 368–370.
Tan DM, Wu XL, Qiu C, *et al.* Investigation on the quality safety of tibetan butter, tsampa, qingke liquor and wind-dried yak meat in Tibet autonomous region of China [J]. Mod Agric Sci Technol, 2011, (2): 368–370.
- [2] Wu WM, Wu YM, Zheng MM, *et al.* Pressurized capillary electrochromatography with indirect amperometric detection for analysis of organophosphorus pesticide residues [J]. Analyst, 2010, 135: 2150–2156.
- [3] 张少恩, 桑丽雅, 王振国, 等. 有机磷农药快速检测方法的研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2019, 10(9): 2629–2633.
Zhang SN, Sang LY, Wang ZG, *et al.* Research progress on rapid detection methods of organophosphorus pesticides [J]. J Food Saf Qual, 2019, 10(9): 2629–2633.
- [4] 侯逸众, 黄方取, 胡浩军, 等. 分散固相萃取-气相色谱-质谱法测定牛奶中多组分农药残留[J]. 中国卫生检验杂志, 2016, 26(16): 2291–2295.
Hou YZ, Huang FQ, Hu HJ, *et al.* Determination of multicomponent pesticide residues in milk by dispersive-SPE and GC-MS [J]. Chin J Health Lab Tec, 2016, 26(16): 2291–2295.
- [5] 高杨, 郑玉山, 巴特尔. 气相色谱-串联质谱法测定牛奶中有机磷残留的不确定度评定[J]. 食品安全质量检测学报, 2015, 6(10): 4237–4241.
Gao Y, Zheng YS, Ba TE. Uncertainty evaluation of organic organophosphorus residues in milk determination by gas chromatography-tandem mass spectrometry [J]. J Food Saf Qual, 2015, 6(10): 4237–4241.
- [6] Anastassiades M, Lehotay S, 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: 412–431.
- [7] Zhang C, Deng Y, Zheng J, *et al.* The application of the QuEChERS methodology in the determination of antibiotics in food: a review [J]. Trends Anal Chem, 2019, 118: 517–537.
- [8] Xu X, Xu XY, Han M, *et al.* Development of a modified QuEChERS method based on magnetic multiwalled carbon nanotubes for the simultaneous determination of veterinary drugs, pesticides and mycotoxins in eggs by UPLC-MS/MS [J]. Food Chem, 2019, 276: 419–426.
- [9] González-J J, Alfonso A, Rodríguez I, *et al.* A QuEChERS based

extraction procedure coupled to UPLC-MS/MS detection for mycotoxins analysis in beer [J]. Food Chem, 2019, 275: 703–710.

- [10] Petrarca M, Godoy H. Gas chromatography-mass spectrometry determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in baby food using QuEChERS combined with low density solvent dispersive liquid-liquid microextraction [J]. Food Chem, 2018, 257: 44–52.
- [11] Zheng HB, Ding J, Zheng SJ, *et al.* Magnetic “one-step” quick, easy, cheap, effective, rugged and safe method for the fast determination of pesticide residues in freshly squeezed juice [J]. J Chromatogr A, 2015, 1398: 1–10.
- [12] Chen YL, Cao SR, Zhang L, *et al.* Preparation of size-controlled magnetite nanoparticles with a graphene and polymeric ionic liquid coating for the quick, easy, cheap, effective, rugged and safe extraction of preservatives from vegetables [J]. J Chromatogr A, 2016, 1448: 9–19.
- [13] Martins M, Kemmerich M, Prestes O, *et al.* Evaluation of an alternative fluorinated sorbent for dispersive solid-phase extraction clean-up of the quick, easy, cheap, effective, rugged, and safe method for pesticide residues analysis [J]. J Chromatogr A, 2017, 1514: 36–43.
- [14] 高海荣. 二氧化锆 QuEChERS-高效液相色谱-串联质谱测定鱼肉中 2 种硝基咪唑及代谢产物[J]. 食品工业科技, 2019, 40(4): 266–270.
Gao HR. Determination of nitroimidazoles in fish by QuEChERS extraction with ZrO₂ coupled to high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Sci Technol Food Ind, 2019, 40(4): 266–270.
- [15] Rejczak T, Tuzimski T. QuEChERS-based extraction with dispersive solid phase extraction clean-up using PSA and ZrO₂-based sorbents for determination of pesticides in bovine milk samples by HPLC-DAD [J]. Food Chem, 2017, 217: 225–233.
- [16] Sun M, Yu L, Tong Z, *et al.* Determination of phenamacril residues in flour and rice based on Z-Sep+ using UPLC-MS/MS [J]. Biomed Chromatogr, 2019, 4688: 1–6.
- [17] NY/T 1380-2007 蔬菜水果中 51 种农药多残留的测定 气相色谱-质谱法[S].
NY/T 1380-2007 Determination of 51 pesticide residues in fruits and vegetables-Gas chromatography-mass spectrometry [S].

(责任编辑: 于梦娇)

作者简介



王 军, 硕士研究生, 助理研究员, 主要研究方向为农产品质量安全检测。
E-mail: minda127@126.com



代艳娜, 硕士研究生, 助理研究员, 主要研究方向为农产品质量安全检测。
E-mail: 1156416369@qq.com