

冷冻去脂/分散固相萃取-气相色谱-串联质谱法 快速测定水产品中 43 种农药残留

周 敏, 赵月钧, 钟寒辉, 俞璐萍, 倪娟桢, 王 伟, 郑剑峰, 孙文闪*

(绿城农科检测技术有限公司, 杭州 310052)

摘 要: **目的** 建立冷冻去脂/分散固相萃取-气相色谱-串联质谱法测定水产品中 43 种农药残留的方法。**方法** 样品经乙腈超声提取, 冷冻去脂后经 N-丙基乙二胺(N-propyl ethylenediamine, PSA)和十八烷基硅烷键合硅胶(octadecyl silane bonded silica gel, C₁₈)净化, 在多反应监测(multiple reaction monitoring, MRM)模式下, 以目标化合物的保留时间和碎片离子丰度比定性, 采用内标法定量测定。**结果** 43 种农药在 0.005~0.500 mg/kg 范围内线性关系良好, 相关系数均大于 0.995, 检出限为 0.002 mg/kg, 定量限为 0.005 mg/kg, 3 个浓度加标回收率在 64.3%~119.0%之间, 相对标准偏差(relative standard deviations, RSDs, $n=6$)在 2.6%~11.3%之间。**结论** 该方法具有操作简单、快速、灵敏、准确的特点, 适用于水产品中 43 种农药残留的快速测定。

关键词: 冷冻去脂; 分散固相萃取; 内标法; 气相色谱-串联质谱法; 水产品; 农药残留

Rapid determination of 43 kinds of pesticide residues in aquatic products by gas chromatography-tandem mass spectrometry with freezing lipid filtration and dispersed solid phase extraction

ZHOU Min, ZHAO Yue-Jun, ZHONG Han-Hui, YU Lu-Ping, NI Juan-Zhen,
WANG Wei, ZHENG Jian-Feng, SUN Wen-Shan*

(Greentown Agricultural Testing Technology Co., Ltd., Hangzhou 310052, China)

ABSTRACT: Objective To establish a method for the determination of 43 kinds of pesticide residues in aquatic products by freezing lipid filtration/dispersed solid phase extraction-gas chromatography-tandem mass spectrometry. **Methods** The samples were ultrasonically extracted with acetonitrile, frozen and degreased, purified by N-propyl ethylethylenediamine (PSA) and octadecyl silane bonded silica gel (C₁₈), in the multiple reaction monitoring (MRM) mode, the retention time of the target compound and the fragment ion abundance ratio were used for qualitative analysis and the internal standard method was used for quantitative determination. **Results** The linear relationships were good within the range of 0.005–0.500 mg/kg, with correlation coefficients greater than 0.995, the detection limit and quantitation limit were 0.002 mg/kg and 0.005 mg/kg, respectively, the recoveries at the 3 spiked concentrations were within the range of 64.3%–119.0%, and the relative standard deviations (RSDs, $n=6$) was within the range of 2.6%–11.3%. **Conclusion** This method is simple, rapid, sensitive and accurate, and is suitable for the

基金项目: 国家重点研发计划项目(2018YFC1602800)

Fund: Supported by the National Key Research and Development Program (2018YFC1602800)

*通信作者: 孙文闪, 硕士, 高级工程师, 主要研究方向为食品环境相关检测技术研究。E-mail: 627268600@qq.com

*Corresponding author: SUN Wen-Shan, Master, Senior Engineer, Greentown Agricultural Testing Technology Co., Ltd., Hangzhou 310052, China. E-mail: 627268600@qq.com

rapid determination of 43 kinds of pesticide residues in aquatic products.

KEY WORDS: freezing lipid filtration; dispersed solid phase extraction; internal standard method; gas chromatography-tandem mass spectrometry; aquatic products; pesticide residues

0 引言

我国是水产品生产大国,连续多年水产品生产总量居世界首位。随着水产养殖业的蓬勃发展,水产品中农药残留问题日益突出,已成为社会关注的食品安全热点问题之一。水产品中的农药残留通常来源于两个方面:一是养殖过程施用药物来防治水产品的疫病和虫害,二是在环境施用的农药随雨水冲淋流入养殖水体。残留农药大部分为亲脂性农药,养殖水体中的农药通过食物链被水产品富集。为保护人类健康,各国政府加强了水产品中的农药残留监控,制定了农药残留限量。欧盟 Commission Regulation (EC) No 2162/2001 of 7 November 2001 规定水产品中氯氰菊酯最大残留量为 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 溴氰菊酯为 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。日本“肯定列表制度”中规定了鲑形目:大马哈鱼和虹鳟鱼中氯氰菊酯、溴氰菊酯最高残留限量为 30 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 其他鱼及水生动物均为 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。我国 GB 31650—2019《食品安全国家标准 食品中兽药最大残留限量》中规定:氯氰菊酯在鱼肉中中小于等于 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 溴氰菊酯在鱼肉中中小于等于 30 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 氟胺氰菊酯在所有动物源性食品中中小于等于 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。2021 年国家食品安全监督抽检实施细则将淡水鱼的氯氰菊酯、溴氰菊酯作为高风险检测项目。水产品主要成分为蛋白质和脂肪,农药残留被提取出来时,大量的脂肪同时被提取出来,提取液除脂净化非常重要,否则会对上机分析带来很大干扰。因此建立一种简单、快速、灵敏、准确的多种农药残留检测方法对于保障人民舌尖上的安全非常重要。

目前,水产品中农药残留主要分析方法有气相色谱法^[1-6]、气相色谱-质谱法^[7-12]和液相色谱-串联质谱法^[13-17]。气相色谱法分析时间长、选择性差且易出现假阳性。液相色谱-串联质谱法分析时间短、选择性强,但是大部分脂溶性农药在液相色谱-串联质谱上响应低或者无响应。目前水产品中农药残留的测定前处理操作复杂、有机试剂消耗量大、效率低、成本高、仪器测定分析时间长。分散固相萃取净化^[18-24]由于其具有简单、可靠、快速、经济的优点,在蔬菜水果农药多残留的检测中大量应用,在水产品中有一定的应用。与液相色谱质谱法结合检测具有一定极性的农药^[15-17],不适合脂溶性农药的测定。目前尚未有气相色谱-串联质谱法快速测定水产品中多种脂溶性农药残留的报道,本研究拟采用冷冻去脂结合分散固相萃取对样品进行净化,上机分析采用气相色谱-串联质谱法(gas chromatography-tandem mass spectrometry, GC-MS/MS)测定,多重反应监测内标法定量。前处理通过优化冷冻温度和时间及净化粉用量来去除提取液杂

质对目标物的干扰,上机分析通过对气相色谱和质谱条件进行优化以达到在较短时间内能够准确定量多农药残留,选择合适的内标以消除基质效应干扰。期望通过以上研究解决水产品前处理复杂、有机试剂消耗量大、分析时间长、效率低等问题,为水产品中农药残留监控提供技术支撑。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

Agilent 7890B/7000C 气相色谱-串联质谱仪、HP-5MS 毛细管色谱柱(15 $\text{m} \times 0.25 \text{ mm}$, 0.25 μm)、空心毛细管柱(5 $\text{m} \times 0.25 \text{ mm}$)(美国 Agilent 公司); ST16R 离心机(美国赛默飞世尔科技公司); BSA2202S 电子天平(德国赛多利斯公司); MS200 多管涡旋混合仪(杭州瑞诚仪器有限公司); KQ5200E 超声波清洗器(昆山超声仪器有限公司); Reeko AutoEVA-20 全自动氮吹浓缩仪(杭州博睿科仪器有限公司)。

标准品:甲拌磷、 α -六六六、 β -六六六、 γ -六六六、特丁硫磷、 δ -六六六等 43 种标准品(纯度 $>98.0\%$)、外环氧七氯内标(纯度 99.5%)(德国 DnEhrensmaier GmbH 公司);正己烷(色谱纯,美国赛默飞世尔科技公司);乙腈、丙酮、甲醇(色谱纯,美国 Merck 公司);N-丙基乙二胺(N-propyl ethylenediamine, PSA)、十八烷基硅烷键合硅胶(octadecyl silane bonded silica gel, C₁₈)、0.22 μm 聚四氟乙烯滤膜(天津博纳艾杰尔科技有限公司);氯化钠、无水硫酸镁(分析纯,广州化学试剂厂);无水硫酸镁使用前需在马弗炉中 550 $^{\circ}\text{C}$ 烘干 4 h。样品:随机购买本地市场的鱼、虾、蟹等水产品,取样前混合均匀。

1.2 仪器条件

1.2.1 色谱条件

色谱柱:HP-5MS 色谱柱(15 $\text{m} \times 0.25 \text{ mm}$, 0.25 μm)与空心柱串联(5 $\text{m} \times 0.25 \text{ mm}$);进样口温度:250 $^{\circ}\text{C}$;柱流量:1.4 mL/min ;采用程序升温:起始柱温 80 $^{\circ}\text{C}$,保持 0 min,以 40 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升温至 160 $^{\circ}\text{C}$,保持 0 min,再以 20 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升温至 290 $^{\circ}\text{C}$ 保持 1.5 min,总用时 12.0 min;进样量:2 μL ;进样方式:不分流进样;载气:高纯氦气;碰撞气:高纯氦气,纯度 $\geq 99.999\%$ 。

1.2.2 质谱条件

电离方式:电子轰击离子源(electron ionization, EI);色谱-质谱接口温度:280 $^{\circ}\text{C}$;电离能量:70 eV;离子源温度:230 $^{\circ}\text{C}$;检测器电压:2211 V;数据采集:多反应监测(multiple reaction monitoring MRM)模式;定量方式:内标法;43 种农药的质谱参数见表 1。

表 1 43 种农药及内标的 GC-MS/MS 分析参数
Table 1 GC-MS/MS parameters for 43 kinds of pesticides and internal standard

序号	化合物	离子对(<i>m/z</i>)	碰撞能量 /eV
1	甲拌磷	230.9>128.9*, 260.0>75.0	25, 5
2	α -六六六	216.9>181.0*, 218.9>183.0	5, 5
3	β -六六六	216.9>181.1*, 218.9>183.1	5, 5
4	γ -六六六	216.9>181.0*, 181.0>145.0	5, 15
5	特丁硫磷	230.9>129.0*, 230.9>175.0	20, 10
6	δ -六六六	217.0>181.1*, 181.1>145.1	5, 15
7	乙烯菌核利	187.0>124.0*, 187.0>159.0	20, 10
8	甲基对硫磷	125.0>47.0*, 125.0>79.0	10, 5
9	氟甲腈	388.0>332.9*, 333.0>231.0	18, 27
10	甲拌磷亚砷	153.0>96.9*, 96.9>64.9	10, 20
11	马拉硫磷	172.9>99.0*, 126.9>99.0	15, 5
12	甲拌磷砷	153.0>97.0*, 124.9>96.9	10, 5
13	倍硫磷	278.0>109.0*, 124.9>47.0	15, 10
14	毒死蜱	313.8>285.8*, 198.9>171.0	5, 15
15	对硫磷	290.9>109.0*, 138.9>109.0	10, 5
16	三唑酮	128.0>65.0*, 208.0>181.1	20, 5
17	三氯杀螨醇	250.0>139.0*, 250.0>215.0	15, 10
18	甲基异柳磷	199.0>121.0*, 241.1>121.1	14, 22
19	二甲戊灵	251.8>162.2*, 251.8>161.1	10, 15
20	氟虫腈硫酸酯	351.0>255.0*, 420.0>350.9	18, 15
21	氟虫腈	366.9>212.9*, 368.9>214.9	30, 30
22	腐霉利	282.8>96.0*, 96.0>67.1	10, 10
23	三唑醇	128.0>65.0*, 128.0>100.0	25, 10
24	氟虫腈砷	383.0>255.0*, 383.0>213.0	24, 36
25	醚菌酯	206.1>116.1*, 206.1>131.1	6, 14
26	虫螨腈	136.9>102.0*, 327.8>246.8	15, 15
27	倍硫磷亚砷	278.0>109.0*, 125.0>47.0	15, 10
28	倍硫磷砷	309.9>105.0*, 124.9>47.0	10, 10
29	噁霜灵	163.1>132.1*, 163.1>117.1	8, 24
30	异菌脲	187.0>124.0*, 316.0>247.0	25, 12
31	联苯菊酯	181.2>165.2*, 181.2>166.2	25, 10
32	甲氰菊酯	207.9>181.0*, 181.1>152.0	5, 25
33	伏杀硫磷	182.0>111.0*, 182.0>75.1	15, 30
34	氯氟氰菊酯	208.0>181.0*, 181.1>152.0	5, 25
35	氯菊酯	183.1>168.1*, 183.1>165.1	14, 14

表 1(续)

序号	化合物	离子对(<i>m/z</i>)	碰撞能量 /eV
36	氟氯氰菊酯	162.9>90.9*, 162.9>127.0	15, 5
37	氯氰菊酯	181.0>152.1*, 163.0>91.0	25, 10
38	氟氰戊菊酯	198.9>157.0*, 198.9>107.0	10, 25
39	醚菊酯	163.0>107.1*, 163.0>135.1	20, 10
40	氰戊菊酯	167.0>125.1*, 181.0>152.1	5, 20
41	氟胺氰菊酯	250.0>55.0*, 181.0>152.0	40, 40
42	苯醚甲环唑	322.8>264.8*, 324.8>266.8	15, 15
43	溴氰菊酯	181.0>152.1*, 252.9>93.0	25, 15
44	外环氧七氯 (内标)	353.0>263.0*, 353.0>282.0	15, 15

注: *表示定量离子对。

1.3 样品前处理

1.3.1 样品提取

称取制备均匀的样品 5.00 g±0.02 g 于 50 mL 离心管中, 加入 5 mL 一级水和 20 mL 乙腈, 2500 r/min 涡旋振荡 1 min, 超声提取 20 min 后, 加入 1.0 g 氯化钠、4.00 g 无水硫酸镁, 2500 r/min 涡旋振荡 30 s, 8000 r/min 离心 5 min, -20 °C 冷冻 20 min, 上清液待净化。

1.3.2 净化

取 1.3.1 待净化液 6 mL 至 15 mL 离心管中, 加入 0.1 g C₁₈、0.2 g PSA、0.5 g 无水硫酸镁, 2500 r/min 涡旋振荡 30 s, 8000 r/min 离心 3 min, 取出 4.00 mL 置于 10 mL 刻度管中, 40 °C 氮吹至近干, 准确加入 1.0 mg/L 外环氧七氯 100 μL, 再准确加入 900 μL 正己烷, 涡旋 1 min, 超声 30 s, 过 0.22 μm 有机滤膜, 待上机。

1.4 标准溶液的配制

分别准确称取一定质量各农药及内标外环氧七氯, 用正己烷定容, 定容至 50 mL 容量瓶中, 分别配制成 1000 mg/L 的标准储备溶液, 于 4 °C 冰箱避光保存, 有效期 6 个月; 分别准确移取 1.00 mL 标准储备液, 用正己烷稀释定容至 100 mL 容量瓶中, 配制成 10.0 mg/L 混标标准中间液。准确移取 1.00 mL 内标储备液稀释到 100 mL 容量瓶中得到内标中间液为 10.0 mg/L, 于 4 °C 冰箱避光保存, 有效期 3 个月。标准工作溶液配制: 分别准确吸取 5、10、20、50、100、500 μL 的混合标准中间液, 加入 100 μL 10.0 mg/L 内标中间液, 用正己烷稀释定容至 10 mL 容量瓶中。

1.5 数据处理

样品中各农药残留量 *W* (mg/kg)按照公式(1)计算。

$$W = \frac{C \times V}{m}$$

(1)

式(1)中, C 是按照标准曲线计算所得的农药残留的质量浓度, mg/L ; V 是定容体积, mL ; m 为样品质量, g 。

2 结果与分析

2.1 前处理条件优化

2.1.1 提取溶剂的选择

本研究以回收率为评价标准比较了甲醇、丙酮和乙腈 3 种有机溶剂对水产品中 43 种农药组分提取效果(加标浓度为 0.5 mg/kg , $n=6$)。采用甲醇提取时, 提取率在 $30.5\%\sim 71.1\%$ 之间, 这是由于甲醇极性较强, 与水难以通过盐析分层。而采用乙腈和丙酮提取时, 目标组分有较好的溶解性, 加入氯化钠和无水硫酸镁后, 丙酮、乙腈与水容易分层, 回收率分别达到了 $85.1\%\sim 115.0\%$ 和 $81.0\%\sim 116.0\%$ 之间。乙腈可以使蛋白质变性沉淀除去大分子蛋白, 与丙酮相比对脂肪溶解性小, 提取出来的油脂较少, 便于后续的净化。因此本研究选择乙腈作为水产品中多组分农药的提取溶剂。

2.1.2 提取剂体积的优化

本研究比较了不同体积(10 、 15 、 20 、 25 、 30 mL)的乙腈的提取效果(加标浓度为 0.5 mg/kg , $n=6$), 以回收率作为考察指标。实验结果表明: 回收率随着提取体积的增加而升高, 当体积达到 20 mL 之后, 回收率无明显的提高, 为了避免有机试剂的浪费及可能对环境的污染, 因此选择乙腈的提取体积为 20 mL 。

2.1.3 提取时间的优化

提取溶剂和体积确定了以后, 需要对提取时间进行优化, 本研究比较了不同超声时间(10 、 15 、 20 、 25 、 30 min)的提取效果(加标浓度为 0.5 mg/kg , $n=6$), 以提取回收率作为考察指标。结果表明提取回收率随着超声时间的增加而升高, 当超声时间达到 20 min 之后, 回收率无明显提高, 因此最佳的超声时间为 20 min 。

2.1.4 净化方法的选择和优化

水产品的主要成分为脂肪和蛋白质, 样品经过乙腈提取之后, 蛋白质因变性沉淀除去, 脂肪等杂质被提取出来。通常脂肪的去除方法有凝胶渗透色谱(gel permeation chromatography, GPC)分离、固相萃取柱(中性氧化铝小柱)净化, 这两种方法有机试剂消耗量大、效率低、成本高, 由于农药组分与脂类物质在熔点上的差别, 可以采用冷冻的方法将大部分脂类物质从提取溶液中分离出来, 残留在提取液的脂肪再通过 PSA、 C_{18} 分散固相萃取去除。通过对不同冷冻温度(-10 、 -15 、 -20 、 $-25 \text{ }^{\circ}\text{C}$)和冷冻时间(5 、 10 、 15 、 20 、 25 min)处理效果的比较, 发现当提取液在 $-20 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 下冷冻 20 min 后, 提取液中的脂肪可以冷冻析出, 凝结在离心管壁上。然后将离心管中提取上清液 6 mL 移取至另外 15 mL 离心管中, 加入 PSA、 C_{18} 和无水硫酸镁分散固相萃取净化。其中无水硫酸镁的作用主要用来除去提取液的水分, 参考欧盟 EN-15 mL QuEChERS 净化管, 0.5 g 可以

将水分去除。而 PSA 和 C_{18} 可以去除脂肪和色素, 实验比较了 PSA、 C_{18} 不同用量组合对净化效果和回收率的影响, 结果表明: 当 0.1 g C_{18} 和 0.2 g PSA 组合时的回收率最好, 净化粉用量过低时, 杂质去除较差; 净化粉用量过高时, 部分农药组分被 PSA 吸附, 导致回收率低。因此, 采用 0.1 g C_{18} 、 0.2 g PSA 和 0.5 g 无水硫酸镁组合净化。

2.2 仪器条件的优化

2.2.1 质谱条件的优化

在 EI 电离模式下对 43 种农药化合物进行一级质谱扫描(Q1 Scan), 分别找到各个化合物的母离子, 在 $3\sim 45 \text{ eV}$ 进行碰撞能量的优化, 对选定的母离子峰进行子离子扫描, 根据子离子扫描质谱图, 选择离子强度最大的为定量离子, 离子强度次之的为定性离子。43 种农药化合物优化后的离子对和碰撞能量参数见表 1。

2.2.2 气相色谱条件的优化

通常情况下, 气相色谱-质谱完成 43 种农药组分的分离需要 30 min 以上, 本研究采用三重四极杆质谱的多反应监测模式, 在该模式下, 离子对扫描具有高选择性和特异性, 农药组成对色谱分离度要求降低, 采用 HP-5MS 色谱柱($15 \text{ m}\times 0.25 \text{ mm}$, $0.25 \text{ }\mu\text{m}$)分离结合升温程序的优化, 实现 12 min 内完成 43 种农药分析。同时为了避免色谱柱进口端的污染, 在进口端与空心柱($5 \text{ m}\times 0.25 \text{ mm}$)串联, 而不影响分析时间。

2.3 方法的线性范围、检出限及定量限

检出限(limit of detection, LOD)和定量限(limit of quantitation, LOQ)通过空白样品添加回收实验得到, 进样分析信噪比 $S/N\geq 3$ 和 $S/N\geq 10$ 对应的浓度。在最优的实验条件下, 43 种农药组分的检出限为 0.002 mg/kg , 定量限为 0.005 mg/kg 。对 0.005 、 0.010 、 0.020 、 0.050 、 0.100 、 0.500 mg/kg 系列浓度的混合标准溶液进样分析, 进行线性拟合, 相关系数均大于 0.995 , 43 种农药组分在 $0.005\sim 0.500 \text{ mg/kg}$ 均具有良好的线性关系。

2.4 方法的准确度与精密度

方法的准确度通过空白样品实验的回收率来考察, 精密度通过同一浓度添加 6 次回收率的相对标准偏差(relative standard deviation, RSD)来获得, 添加浓度选择高、中、低(0.400 、 0.050 、 0.005 mg/kg) 3 个浓度, 空白基质选择鲫鱼、河虾、梭子蟹、牛蛙、黄鳝、泥鳅 6 种水产品进行方法确认。实验结果见表 2。结果表明: 43 种农药组分在鲫鱼、河虾、梭子蟹、牛蛙、黄鳝、泥鳅 6 种基质中添加回收率分别为 $72.5\%\sim 102.0\%$ 、 $80.5\%\sim 119.0\%$ 、 $82.5\%\sim 119.0\%$ 、 $64.3\%\sim 92.3\%$ 、 $68.6\%\sim 92.4\%$ 、 $69.8\%\sim 88.6\%$, 精密度分别为 $4.5\%\sim 10.2\%$ 、 $4.3\%\sim 11.3\%$ 、 $3.1\%\sim 9.6\%$ 、 $2.6\%\sim 9.3\%$ 、 $3.6\%\sim 9.1\%$ 、 $4.4\%\sim 10.5\%$ 符合 GB/T 27404—2008《实验室质量控制规范 食品理化检测》方法确认回收率和精密度的要求。

表 2 回收率和精密度实验结果(n=6)
Table 2 Experimental results of recovery and precision (n=6)

基质	添加量/(mg/kg)	回收率/%	RSDs/%
鲫鱼	0.400	86.6~102.0	4.5~7.6
	0.050	82.3~96.1	6.4~8.6
	0.005	72.5~86.3	6.0~10.2
河虾	0.400	82.2~118.0	4.3~7.1
	0.050	80.5~119.0	5.1~7.6
	0.005	83.4~117.0	6.7~11.3
梭子蟹	0.400	89.2~116.0	3.1~6.2
	0.050	82.5~115.0	4.5~8.2
	0.005	85.6~119.0	5.3~9.6
牛蛙	0.400	80.0~92.3	2.6~8.7
	0.050	66.7~89.2	3.6~6.5
	0.005	64.3~82.6	5.6~9.3
黄鳝	0.400	81.5~92.4	3.6~6.8
	0.050	68.6~85.3	5.8~8.2
	0.005	69.3~82.3	6.5~9.1
泥鳅	0.400	80.4~88.6	4.4~7.2
	0.050	70.2~85.6	5.1~9.5
	0.005	69.8~81.6	6.9~10.5

2.5 样品基质效应的考察

基质效应(matrix effect, ME)指待测目标物的样品提取物, 会增强或抑制被测目标物的检测响应, 从而对检测结果的准确度造成影响, 气相色谱-串联质谱法的建立需要考虑基质效应对准确度的影响。本研究通过前处理净化结合内标法定量消除基质效应的干扰, 内标的选择参考 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》和 GB 23200.8—2016《食品安全国家标准 水果和蔬菜中 500 种农药及相关化学品残留量的测定 气相色谱-质谱法》。通过对鲫鱼、河虾、梭子蟹、牛蛙、黄鳝、泥鳅 6 种水产品基质回收率的验证确认: 通过冷冻去脂、分散固相萃取净化离心, 多反应监测内标法基本上消除了水产品的基质效应对定量分析的影响, 43 种农药组分的回收率在 64.3%~119.0%之间, 样品基质效应控制在合理范围内, 该方法适应于不同种类的水产品样品的检测。

2.6 实际样品测定

用本研究方法对 100 批次代表性的水产品样品进行了检测, 检测结果显示: 部分水产品中农药残留有检出, 其中甲氰菊酯检出 6 批次, 含量在 0.037~0.19 mg/kg 之间,

氯氟氰菊酯检出 1 批次, 含量为 0.029 mg/kg, 检出的主要基质为淡水鱼, 图 1 和图 2 分别为鱼肉中甲氰菊酯和氯氟氰菊酯的 MRM 色谱图。从图 1、2 中可以看出, 色谱峰峰型尖锐对称, 无杂质干扰, 能够通过峰面积准确定量, 同时也是对本方法的实际样品检测的验证。

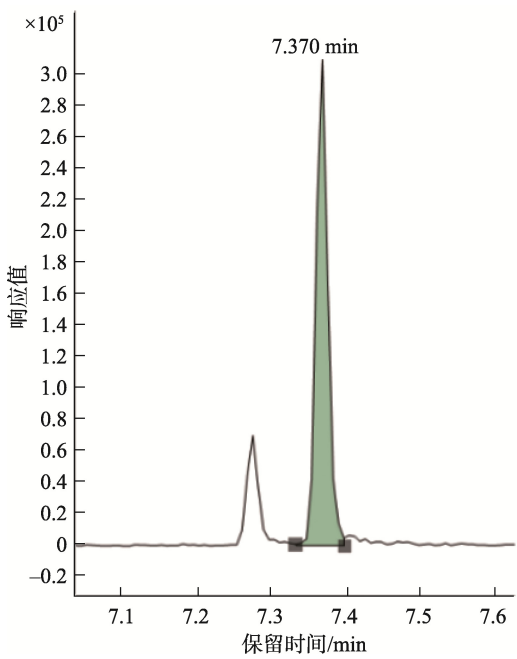


图 1 鱼肉中甲氰菊酯残留量 MRM 色谱图(0.037 mg/kg)
Fig.1 MRM chromatogram of fenprothrin residues in fish (0.037 mg/kg)

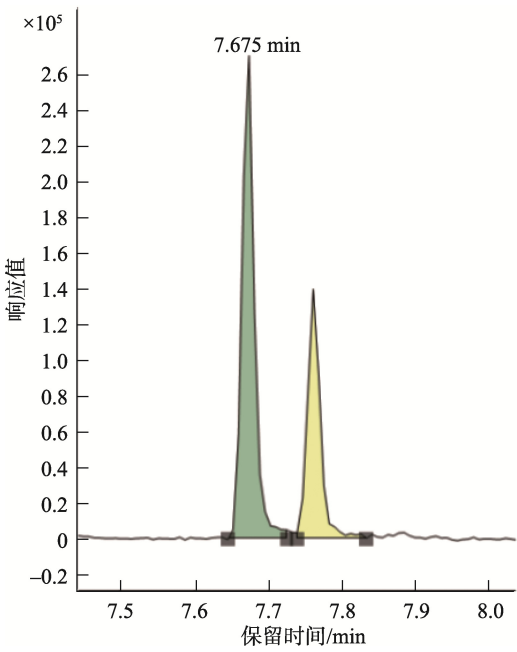


图 2 鱼肉中氯氟氰菊酯残留量 MRM 色谱图(0.029 mg/kg)
Fig.2 MRM chromatogram of cyhalothrin residues in fish (0.029 mg/kg)

3 结论与讨论

本研究通过对前处理和仪器条件的优化建立了冷冻去脂/分散固相萃取-气相色谱-串联质谱内标法快速检测水产品中 43 种农药残留的方法,与以往的研究^[25-29]相比该方法前处理操作简单,色谱分离采用 HP-5MS 色谱柱(15 m×0.25 mm, 0.25 μm)与空心柱(5 m×0.25 mm)串联,12 min 内完成 43 种农药分析,仪器分析时间短,多反应监测模式内标法定量,抗干扰能力强,灵敏度和准确度高,为水产品中多农药残留分析提供了快速的检测方法。

参考文献

- [1] 李丽春, 刘书贵, 尹怡, 等. 气相色谱法测定罗非鱼肌肉和血浆中 4 种拟除虫菊酯类农药残留[J]. 中国渔业质量与标准, 2018, 8(1): 40–48.
- [2] 孙晓杰, 丁海燕, 李兆新, 等. 气相色谱-电子捕获检测法测定食品中有机氯类和拟除虫菊酯类农药残留量[J]. 食品安全质量检测学报, 2019, 10(21): 7283–7289.
- [3] 刘沛明. 气相色谱法测定水产品中氯氰菊酯、氰戊菊酯和溴氰菊酯[J]. 分析仪器, 2020, 5(5): 23–26.
- [4] 陈湘艺, 李小玲, 黄华伟, 等. 气相色谱法测定养殖水体及水产品组织中的拟除虫菊酯[J]. 安徽农业科学, 2015, 43(14): 96–98.
- [5] 罗运福. 农药残留检测中应用气相色谱及质谱的效果分析[J]. 食品安全导刊, 2020, (15): 175–177.
- [6] 余颖. 气相色谱法测定水产品中 4 种三唑类农药残留[J]. 渔业研究, 2018, 40(3): 209–216.
- [7] 孙晓杰, 郭萌萌, 孙伟红, 等. QuEChERS 在线凝胶色谱-气相色谱-质谱快速检测水产品中农药多残留[J]. 分析科学学报, 2014, 30(6): 868–872.
- [8] 徐文科, 孟祥龙, 范广宇, 等. 凝胶渗透-负化学电离质谱法测定水产品中多种农药残留[J]. 现代食品, 2021, (15): 186–188.
- [9] 孟祥龙, 夏梦, 张云青, 等. 气相色谱串联质谱法检测水产品中有机氯和菊酯农药残留[J]. 食品研究与开发, 2019, 40(16): 153–158.
- [10] 叶茂盛, 孙秀梅, 郝青, 等. 水产品中有机磷农药多残留的固相萃取-气相色谱串联质谱测定[J]. 浙江海洋大学学报(自然科学版), 2019, 38(2): 174–179.
- [11] 孙秀梅, 郝青, 金衍健, 等. 固相萃取-气相色谱质谱法同时测定稻田水产品中 11 种农药残留[J]. 山东化工, 2017, 46(21): 83–84.
- [12] 黄武, 章晶晶, 刘辉, 等. QuEChERS 结合在线凝胶渗透色谱-气相色谱-质谱联用法快速检测水产品中农药残留[J]. 食品安全质量检测学报, 2016, 7(2): 746–754.
- [13] 王玉健, 黄惠玲, 董存柱, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法同时测定水产品中 9 种有机磷农药残留量[J]. 理化检验(化学分册), 2013, 49(4): 398–404.
- [14] ZHANG Y, ZHAO YG, CHENG HL, *et al.* Fast determination of fipronil and its metabolites in seafood using PRiME pass-through cleanup followed by isotope dilution UHPLC-MS/MS [J]. Anal Methods, 2018, 10(15): 1673–1679.
- [15] 尹怡, 赵城, 余权, 等. 改良 QuEChERS 法与 LC-MS-MS 联用测定水产品中 13 种农药残留[J]. 中国食品报, 2019, 19(11): 255–260.
- [16] 马丽莎, 谢文平, 尹怡, 等. QuEChERS-高效液相色谱-串联质谱法测定稻田水产品中氟虫腈及其代谢物残留[J]. 食品科学, 2021, 42(14): 308–314.
- [17] 臧国栋, 黄子敬, 陈孟君, 等. QuEChERS 结合超高效液相色谱-串联质谱法同时检测水产品中 49 种农药残留[J]. 食品安全质量检测学报, 2018, 9(9): 2147–2153.
- [18] NENG XL, XIA M, ZHANG YQ, *et al.* Determination of organochlorine and chrysanthemum ester pesticides residues in aquatic products using gel permeation chromatography and gas chromatography-triple quadrupole-tandem mass spectrometry [J]. Food Res Dev, 2019, 40(16): 153–158.
- [19] YE MS, SUN XM, HAO Q, *et al.* Determination of organophosphorus pesticide residues in aquatic products by solid phase extraction coupled with gas chromatography tandem mass spectrometry [J]. J Zhejiang Ocean Univ (Nat Sci Ed), 2019, 38(2): 174–179.
- [20] SUN XM, HAO Q, JIN YJ, *et al.* Simultaneous determination of 11 pesticide residues in rice field aquatic products by solid phase extraction and gas chromatography-mass spectrometry [J]. Shandong Chem Ind, 2017, 46(21): 83–84.
- [21] HUANG W, ZHANG JJ, LIU H, *et al.* Rapid determination of pesticide residues in aquatic products by QuEChERS combined with on line gel permeation chromatography-gas chromatography mass spectrometry [J]. J Food Saf Qual, 2016, 7(2): 746–754.
- [22] WANG YJ, HUANG HL, DONG CZ, *et al.* Simultaneous determination of 9 organophosphorus pesticides in aquatic products by UHPLC-MS/MS [J]. Phys Test Chem Anal Part B, 2013, 49(4): 398–404.
- [23] ZHANG Y, ZHAO YG, CHENG HL, *et al.* Fast determination of fipronil and its metabolites in seafood using PRiME pass-through cleanup followed by isotope dilution UHPLC-MS/MS [J]. Anal Methods, 2018, 10(15): 1673–1679.
- [24] YIN Y, ZHAO C, YU Q, *et al.* Determination of 13 pesticide residues in aquatic products by modified QuEChERS coupled with LC-MS/MS [J]. J Chin Inst Food Sci Technol, 2019, 19(11): 255–260.
- [25] MA LS, XIE WP, YI Y, *et al.* Determination of fipronil and its metabolite residues in rice field aquatic products by QuEChERS-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Food Sci, 2021, 42(14): 308–314.

- ZANG GD, HUANG ZJ, CHEN MJ, *et al.* Determination 49 pesticide and veterinary drug residues in aquatic products by QuEChERS combined with ultra performance liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. *J Food Saf Qual*, 2018, 9(9): 2147–2153.
- [18] HE Z, CHEN S, WANG L, *et al.* Multiresidue analysis of 213 pesticides in leek and garlic using QuEChERS-based method and gas chromatography-triple quadrupole mass spectrometry [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2015, 407(9): 2637–2643.
- [19] 许文娟, 王振刚, 丁葵英, 等. QuEChERS/液相色谱-串联质谱法测定5种蔬菜中17种氨基甲酸酯类农药的基质效应研究[J]. *分析测试学报*, 2017, 36(1): 54–60.
- XU WJ, WANG ZG, DING KY, *et al.* Detection of matrix effects of 17 carbamate pesticides in 5 vegetables by QuEChERS/LC-MS/MS method [J]. *J Instrum Anal*, 2017, 36(1): 54–60.
- [20] MACHADO I, GÉREZ N, PISTÓN M, *et al.* Determination of pesticide residues in globe artichoke leaves and fruits by GC-MS and LC-MS/MS using the same QuEChERS procedure [J]. *Food Chem*, 2017, 227: 227–236.
- [21] HAKME E, LOZANO A, UCLÉS S, *et al.* Further improvements in pesticide residue analysis in food by applying gas chromatography triple quadrupole mass spectrometry (GC-QqQ-MS/MS) technologies [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2018, 410(22): 5491–5506.
- [22] NORLI HR, CHRISTIANSEN AL, STUVESETH K. Analysis of non-cleaned QuEChERS extracts for the determination of pesticide residues in fruit, vegetables and cereals by gas chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Food Addit Contam Part A*, 2016, 33(2): 300–312.
- [23] 曹小云, 陈树干, 曾楚莹, 等. QuEChERS-分散液液微萃取/气相色谱-串联质谱法高通量快速检测蔬果中152种农药残留[J]. *分析测试学报*, 2019, 38(8): 920–930.
- CAO XY, CHEN SG, ZENG CY, *et al.* High-throughput rapid detection of multi-pesticide residues in vegetables and fruits by gas chromatography-tandem mass spectrometry combined with QuEChERS-dispersed liquid-liquid microextraction [J]. *J Instrum Anal*, 2019, 38(8): 920–930.
- [24] 许炳雯, 孙程鹏, 葛祥武, 等. 气相色谱-串联质谱法测定30种果蔬中61种农药的基质效应及其克服方式[J]. *食品安全质量检测学报*, 2021, 12(15): 6068–6076.
- XU BW, SUN CP, GE XW, *et al.* Matrix effects and their countermeasures of 61 kinds of pesticides in 30 kinds of fruits and vegetables by gas chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *J Food Saf Qual*, 2021, 12(15): 6068–6076.
- [25] SONG NE, LEE JY, MANSUR AR, *et al.* Determination of 60 pesticides in hen eggs using the QuEChERS procedure followed by LC-MS/MS and GC-MS/MS [J]. *Food Chem*, 2019, 298: 1–10.
- [26] BISWAS S, MONDAL R, MUKHERJEE A. Simultaneous determination and risk assessment of fipronil and its metabolites in sugarcane, using GC-ECD and confirmation by GC-MS/MS [J]. *Food Chem*, 2019, 272: 559–567.
- [27] 高尧华, 刘冰, 滕爽, 等. 气质联用法测定水产品中50种农药残留量[J]. *食品研究与开发*, 2018, 39(3): 132–138.
- GAO RH, LIU B, TENG S, *et al.* Determination of 50 pesticide residues in aquatic products by gas chromatography mass spectrometry [J]. *Food Res Dev*, 2018, 39(3): 132–138.
- [28] 李婷婷, 张勋, 付瑶, 等. 气相色谱-串联质谱法同时测定可食用动物猪、牛和羊及淡水鱼中12种拟除虫菊酯类农药的残留量[J]. *化学试剂*, 2017, 39(1): 41–45.
- LI TT, ZHANG X, FU Y, *et al.* Simultaneous determination of 12 pyrethroids residues in pigs, cattle, sheep and freshwater fish by gas chromatography tandem mass spectrometry [J]. *Chem Reagent*, 2017, 39(1): 41–45.
- [29] 孙秀梅, 郜文, 金衍健, 等. 典型养殖环境及水产品中拟除虫菊酯类农药残留分析及食用风险评价[J]. *山东化工*, 2020, 49(22): 78–83.
- SUN XM, HAO W, JIN YJ, *et al.* Analysis and risk assessment of pyrethroid pesticide residues in typical aquaculture environment and aquatic products [J]. *Shandong Chem Ind*, 2020, 49(22): 78–83.

(责任编辑: 张晓寒 于梦娇)

作者简介



周敏, 高级工程师, 主要研究方向为食品安全检测技术研究。

E-mail: zhoumin5517@dingtalk.com



孙文闪, 硕士, 高级工程师, 主要研究方向为食品环境相关检测技术研究。

E-mail: 627268600@qq.com