

阵列式薄膜固相微萃取结合高效液相色谱-串联质谱法测定农产品中 13 种农药残留

张帆¹, 王静², 颜蒙蒙³, 朱超³, 冯军军¹, 谭天宇¹, 刘佳惠¹, 李腾飞^{1*}

(1. 河北工程大学生命科学与食品工程学院, 邯郸 056038; 2. 河北工程大学材料科学与工程学院, 邯郸 056038;
3. 山东省农业科学院, 农业质量标准与检测技术研究所, 济南 250100)

摘要: **目的** 建立阵列式薄膜固相微萃取(array-thin film micro-extraction, aTFME)结合高效液相色谱-串联三重四极杆质谱法检测农产品中 13 种农药残留的分析方法。**方法** 将样品粉碎匀浆, 以聚丙烯腈-亲疏水平衡材料(polyacrylonitrile-hydrophile lipophile balance, PAN-HLB)作为 aTFME 薄膜材料振荡吸附 30 min 后, 加入洗脱液(乙腈:甲醇:水=17:2:1, V:V:V)振荡洗脱 30 min, 采用 Agilent Poroshell 120 EC-C₁₈ 色谱柱(150 mm× 3.0 mm, 2.7 μm)分离, 以甲醇和 0.1%甲酸溶液体系为流动相进行梯度洗脱, 电喷雾离子源正离子扫描, 多反应监测模式检测, 基质匹配标准曲线法定量。**结果** 13 种农药化合物在一定浓度范围内线性关系良好($r^2>0.99$); 在梨、大白菜、茶样品中检出限和定量限范围分别为 0.08~1.20 μg/kg 和 0.20~4.00 μg/kg; 选择空白样品在低、中、高 3 个水平进行添加回收实验, 3 种样品回收率分别为 70%~114%、72%~121%、70%~121%。**结论** 本研究应用的 aTFME 前处理技术具有操作简便、效率高、有机试剂消耗低、可重复利用、灵敏度高的优势, 可为农产品中农药的检测提供技术支持。

关键词: 阵列式薄膜固相微萃取; 样品前处理; 高效液相色谱-串联质谱法; 农药残留

Determination of 13 kinds of pesticide residues in agricultural products by array-thin film micro-extraction coupled with high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry

ZHANG Fan¹, WANG Jing², YAN Meng-Meng³, ZHU Chao³, FENG Jun-Jun¹,
TAN Tian-Yu¹, LIU Jia-Hui¹, LI Teng-Fei^{1*}

(1. Life Sciences and Food Engineering, Hebei University of Engineering, Handan 056038, China; 2. Materials Science and Engineering, Hebei University of Engineering, Handan 056038, China; 3. Institute of Quality Standards and Testing Technology for Agro-products, Shandong Academy of Agricultural Sciences, Jinan 250100, China)

ABSTRACT: Objective To establish a method for the determination of 13 kinds of pesticide residues in agricultural products by array-thin film micro-extraction (aTFME) combined with high performance liquid chromatography-tandem triple quadrupole mass spectrometry. **Methods** The samples were crushed and

基金项目: 邯郸市科学技术研究与发展计划项目(21422903298)、河北省重点研发计划(22325501D)、国家自然科学基金项目(3210161967)、山东省农业科学院创新工程项目(CXGC2021B14、CXGC2021A19)

Fund: Supported by the Handan Science & Technology Research Development Program (21422903298), the Key Research and Development Projects of Hebei (22325501D), the National Natural Science Foundation of China-youth Fund (3210161967), and the Innovation Project of Shandong Academy of Agricultural Sciences (CXGC2021B14, CXGC2021A19)

*通信作者: 李腾飞, 博士, 副教授, 主要研究方向为食品安全检测与控制。E-mail: litengfei@hebeu.edu.cn

*Corresponding author: LI Teng-Fei, Ph.D, Associate Professor, Hebei University of Engineering, No.19, Taiji Road, Congtai District, Handan 056038, China. E-mail: litengfei@hebeu.edu.cn

homogenized, and the polyacrylonitrile-hydrophile lipophile balance (PAN-HLB) was prepared as aTFME film material for oscillating adsorption for 30 min, the eluent (acetonitrile:methanol:water=17:2:1, V:V:V) was added to shake and elute for 30 min. Utilizing Agilent Poroshell 120 EC-C₁₈ chromatographic column (150 mm×3.0 mm, 2.7 μm) to separate, using methanol and 0.1% formic acid solution system as mobile phase for gradient elution, electrospray ion source positive ion scanning, multiple reaction monitoring mode detection, matrix-matched standard curve method for quantification. **Results** The 13 kinds of pesticide compounds had a good linear relationship in a certain concentration range ($r^2>0.99$); the limits of detection and quantification in pear, Chinese cabbage and tea samples range from 0.08 to 1.2 μg/kg and 0.20 to 4.00 μg/kg; the recovery experiments were performed at low, medium and high levels utilizing standard sample spiked into blank samples, and the recovery rates of the 3 kinds of samples were 70%–114%, 72%–121%, and 70–121%. **Conclusion** The aTFME pretreatment applied in this study has the advantages of simple operation, high efficiency, low consumption of organic reagents, reuse, and high sensitivity, which provide technical support for the detection of pesticides in agricultural products.

KEY WORDS: array-thin film micro-extraction; sample pretreatment; high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry; pesticide residues

0 引言

我国是农产品生产与消费大国,生产过程中常施用农药进行病虫害防治以减少经济损失^[1]。然而,农药的不合理施用会引起农产品中农药残留,对人体健康产生直接或潜在的危害。2019年我国农药使用商品量高达145.6万t,其中,有机磷农药作为农产品生产施用最广泛的杀虫剂,其药效高,但其残留过量会对人体神经系统造成严重损害,同时还存在着致癌、致畸、致突变等风险^[2]。随着有机磷农药的施用,防治对象的抗药性也逐渐增加,为此生产中又引入了其他种类杀虫剂包括氨基甲酸酯类^[3]、新烟碱类农药^[4]等。其中氨基甲酸酯类农药的危害与有机磷类似^[5],新烟碱类农药对人体危害较小^[6],但其在土壤与水体的消解时间较长^[7],会对食品与环境安全带来持续影响。因此,农产品中的农药残留情况复杂,准确检测其中多种农药残留对验证食品安全具有重大意义。目前,农产品中农药多残留检测一般采用仪器分析方法^[8–10],包括高效液相色谱(high performance liquid chromatography, HPLC)^[11]、气相色谱-串联质谱技术(gas chromatography tandem mass spectrometry, GC-MS/MS)^[12]、高效液相色谱-串联质谱技术(high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, HPLC-MS/MS)等^[13–14]。其中, HPLC-MS/MS具有高分离度、高灵敏性的优势,是国家标准中农药残留检测常用的确证方法之一。值得注意的是,由于农产品各基质成分复杂, HPLC-MS/MS一般需要对样品进行前处理以避免仪器污染和降低基质干扰^[15],而前处理方法会直接影响 HPLC-MS/MS检测灵敏度、准确度、检测范围、检测效率等,因此前处理技术是目前农药多残留检测的研究热点之一^[16–17]。

农产品中农药多残留检测中常见的前处理方法包括 QuEChERS^[18]、固相萃取(solid phase extraction, SPE)^[19–20]、

固相微萃取(solid phase microextraction, SPME)^[21]等。其中 QuEChERS方法步骤包括样品粉碎均质、有机溶剂提取、萃取盐除水分层、吸附剂净化等; SPE在萃取过程需要利用装置或手动进行萃取柱的活化、萃取、淋洗、洗脱,这两种前处理方法操作较复杂,需要加入大量有机溶剂以提取农药化合物,存在耗费多、时间长、难以重复利用的限制^[22]。SPME方法具有消耗低、效率高的优势,但在复杂基质中,往往需要对吸附材料进行修饰,存在解吸难,线性范围小的不足^[23]。为克服上述前处理存在的不利影响,2012年JIANG等^[24]提出了一种薄膜固相微萃取(thin film micro-extraction, TFME)前处理方法,该方法将吸附材料涂渍在不锈钢片或玻璃纤维表面制备为TFME薄膜,直接置于样品溶液中^[24–25],通过TFME薄膜吸附材料的功能基团与目标物的结构产生化学键作用力将其捕获,达到吸附平衡后,将薄膜浸入洗脱液,洗脱后可联用HPLC-MS/MS进行分析。TFME集萃取、净化、解吸一体,因此操作更加简便;吸附表面积更大,从而提高了灵敏度;此外,TFME更容易洗脱目标物,消耗的有机溶剂也大幅减少,更加绿色环保^[26–27]。阵列式薄膜固相微萃取(array-thin film micro-extraction, aTFME)^[28]基于TFME,将多个TFME薄膜串联起来组合为aTFME薄膜,根据样品数量可增加组数,实现样品批处理。aTFME在更简便、高灵敏、低消耗的基础上提高了检测效率,并能够重复利用,目前aTFME联用HPLC-MS/MS在检测体液中药物与环境污染物^[28–29]表现出较好的应用潜力。

本研究利用aTFME前处理优势结合HPLC-MS/MS技术,建立aTFME-HPLC-MS/MS检测农产品中13种农药残留的方法。以梨、大白菜、绿茶作为农产品中果、蔬、茶的代表样品,根据GB 2763—2021《食品安全国家标准食品中农药最大残留限量》,选择了13种常见农药作为目标物,其中7种农药在3种样品中均有最大残留限量规定。

13 种农药目标物包括:有机磷类(乐果、甲拌磷亚砷、甲拌磷砷、水胺硫磷)、氨基甲酸酯类(多菌灵、克百威)、新烟碱类(噻虫嗪、吡虫啉、啉虫脒)、三唑类(三唑酮、三唑磷)、氨基嘧啶类(啉霉胺)、吗啉类(烯酰吗啉)。通过优化 aTFME 前处理中薄膜材料、提取液酸碱度、吸附时间、洗脱液、洗脱时间等关键实验条件,实现了农药多残留、高灵敏检测,为果蔬中农药多残留的高效检测提供技术支持。

1 材料与方 法

1.1 材料与试剂

新鲜梨、大白菜、绿茶购于济南本地果蔬超市。

甲醇(色谱级,美国 Thermo Fisher Scientific 公司);乙酸(分析纯,国药集团化学试剂有限公司);多菌灵、噻虫嗪、吡虫啉、啉虫脒、乐果、克百威、甲拌磷亚砷、甲拌磷砷、水胺硫磷、啉霉胺、烯酰吗啉、三唑酮、三唑磷 13 种农药标准品(100 mg/L,天津阿尔塔科技有限公司)。

1.2 仪器与设备

Infinite 1290-6460 高效液相色谱-串联质谱仪、Agilent Poroshell 120 EC-C₁₈ 色谱柱(150 mm×3.0 mm, 2.7 μm)(美国 Agilent 公司);IKA MS3 漩涡混合器、IKA T25 高速匀浆机(德国 IKA 公司);PAN-HLB、PAN-SAX 两种 aTFME 薄膜、CONCEPT-96 aTFME 萃取振荡器(香港 FOCUS Technology 公司);P-DW-20-C 96 深孔板(美国 Axygen 公司);CAP 225D 十万分之一天平(德国 Sartorius 公司);0.22 μm 有机相微孔滤膜(天津博纳艾杰尔科技有限公司);Milli-Q 去离子水发生器(美国 Millipore 公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 标准溶液的配制

13 种农药储备液:分别移取 0.2 mL 100 mg/L 各标准品溶液,置于 10 mL 容量瓶中,以甲醇定容,13 种农药质量浓度均为 2 mg/L,保存-20℃待用;实验条件优化所用提取液:向 10 mL 容量瓶中加入 0.1 mL 13 种农药储备液,以纯水定容,13 种农药质量浓度均为 0.02 mg/L,现配现用;13 种农药标准工作溶液:向 10 mL 容量瓶中加入 0.5 mL 农药储备液,以纯水定容,质量浓度均为 0.1 mg/L,梯度稀释至 0.050、0.020、0.010、0.005 mg/L;实验所用活化液:甲醇与水等体积混合,现配现用。

1.3.2 样品均质

选取 12 个表面光滑无病害的新鲜梨,将可食部分四分法切块,称取 500 g 粉碎后放入高速匀浆机 8000 r/min 匀浆 5 min 至无明显颗粒物;选取 4 颗完好的大白菜,将整颗白菜四分法切块,称取其中 255 g,加入 150 mL 纯水粉碎后放入高速匀浆机 8000 r/min 匀浆 5 min;称取干绿茶 10 g 加入沸水 1 L 静置 30 min;上述样品作为样品提取液存于 50 mL 离心管中保存-20℃待用;

1.3.3 aTFME 提取

取 aTFME 薄膜固定在萃取振荡器上方,取 96 深孔板固定在 aTFME 薄膜正下方,首先将 aTFME 薄膜浸入 1.5 mL 活化液中,静置 30 min;再将 aTFME 薄膜浸入 1 mL 提取液中 850 r/min 振荡吸附 30 min 后取出;最后将 aTFME 薄膜浸入 1 mL 洗脱液中,振荡洗脱 30 min;吸取 96 深孔板中洗脱液,过 0.22 μm 滤膜至进样瓶,使用 HPLC-MS/MS 进行分析。处理完成样品后将 aTFME 薄膜浸入 1.5 mL 甲醇 500 r/min 振荡清理杂质,重复 3 次,每次 3 min,干燥后用密封袋保存可重复使用。

1.4 仪器分析参数

液相色谱条件:Agilent Poroshell 120 EC-C₁₈ 色谱柱(150 mm×3.0 mm, 2.7 μm),柱温 35℃,进样量 1 μL,流动相 A 为 0.1%甲酸,流动相 B 为甲醇,流速 0.3 mL/min。梯度洗脱见表 1。

表 1 梯度洗脱条件
Table 1 Gradient elution conditions

时间/min	流动相 A/%	流动相 B/%	流速/(mL/min)
0	90	10	0.3
4.5	25	75	0.3
11.5	5	95	0.3
12.0	5	95	0.3
12.1	90	10	0.3

质谱条件:电喷雾正离子源(electron spray ionization+, ESI+);扫描方式为多反应监测(multiple reaction monitoring, MRM);干燥气温度为 300℃;干燥气流量为 6 L/min;鞘气温度为 400℃;鞘气流速为 11 L/min;毛细管电压为 4000 V;雾化气压力为 35 psi;喷嘴电压为 500 V。13 种农药的质谱分析参数与最大残留限量(maximum residue limit, MRL)见表 2。

1.5 数据处理

数据通过 GraphPad prism 7.0 分析处理,其中显著性差异结果由 1 way ANOVA 分析得出。

2 结果与分析

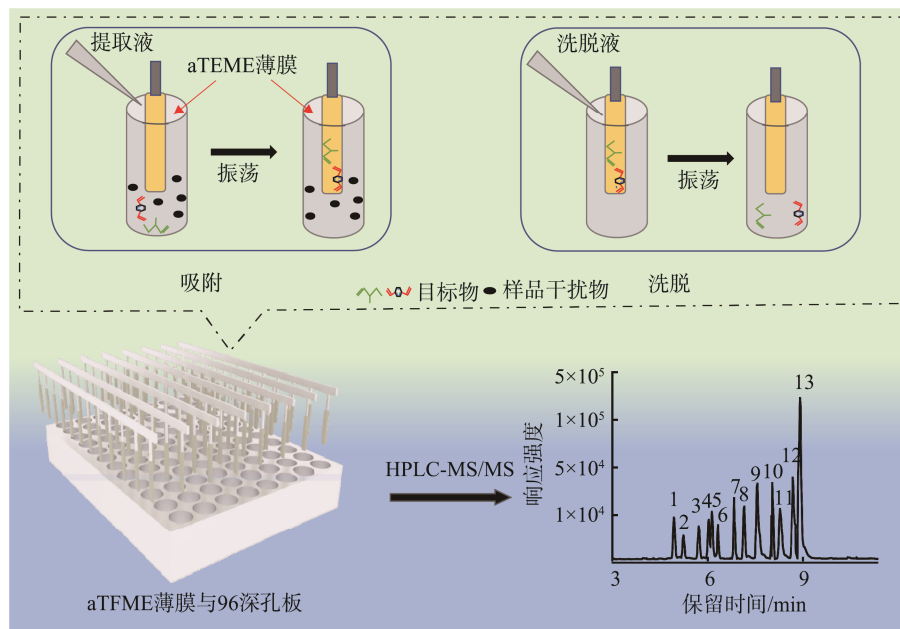
2.1 检测原理

图 1 所示 aTFME-HPLC-MS/MS 方法检测农药残留示意图:首先将 aTFME 薄膜浸入活化液中激活吸附官能团;之后将 aTFME 薄膜浸入提取液,吸附材料对农药化合物产生亲疏水或离子交换作用力,将其捕获至 aTFME 薄膜,期间农药化合物被迅速吸附至 aTFME 薄膜并达到吸附平衡;取出 aTFME 薄膜另加入洗脱液解吸附,农药化合物转移至洗脱液中,最后对洗脱液进行 HPLC-MS/MS 检测,将响应值代入标准曲线得出 13 种农药化合物的残留量。图 2 为 13 种农药化合物多反应监测图。

表2 13种农药化合物质谱分析参数与最大残留限量
Table 2 MS/MS analysis parameters and MRLs of 13 kinds of pesticide compounds

化合物	分子式	分子量	MRL 值/(mg/kg)			锥孔电压 /V	母离子(m/z)	子离子(m/z)	碰撞电压/V
			梨	茶	大白菜				
多菌灵	C ₉ H ₉ N ₃ O ₂	191.1	3	/	/	90	192.1	160* 132	30 30
噻虫嗪	C ₈ H ₁₀ ClN ₅ O ₃ S	291.7	0.3	5	/	80	292	211* 181	5 12
吡虫啉	C ₉ H ₁₀ ClN ₅ O ₂	255.7	0.5	0.2	0.5	100	256.1	209* 175	8 8
啶虫脒	C ₁₀ H ₁₁ ClN ₄	222.7	2	1	1	90	223	126* 90.1	20 35
乐果	C ₅ H ₁₂ NO ₃ PS ₂	229.3	0.01	0.01	0.05	80	230	199* 171	5 10
克百威	C ₁₂ H ₁₅ NO ₃	221.3	0.02	0.02	0.02	100	222	165.1* 123.1	10 20
甲拌磷亚砷	C ₇ H ₁₇ O ₃ PS ₃	276.4	0.01	0.01	0.01	80	277	199* 143	5 15
甲拌磷砷	C ₇ H ₁₇ O ₄ PS ₃	292.4	0.01	0.01	0.01	60	293	171* 143	5 15
水胺硫磷	C ₁₁ H ₁₆ NO ₄ PS	289.3	0.01	0.05	0.05	100	312	270* 236	9 9
啉霉胺	C ₁₂ H ₁₃ N ₃	199.3	1	/	/	120	200	183* 107	25 25
烯酰吗啉	C ₂₁ H ₂₂ ClNO ₄	387.9	0.5	/	/	140	388.1	300.9* 165	15 30
三唑酮	C ₁₄ H ₁₆ ClN ₃ O ₂	293.7	0.5	/	/	107	294	197* 69	9 17
三唑磷	C ₁₂ H ₁₆ N ₃ O ₃ PS	313.0	/	0.05	/	120	314.1	286* 162	10 20

注: *为定量特征离子, /表示未有此项。



注: 1 多菌灵; 2 噻虫嗪; 3 吡虫啉; 4 啶虫脒; 5 乐果; 6 克百威; 7 甲拌磷亚砷; 8 甲拌磷砷; 9 水胺硫磷; 10 啉霉胺; 11 烯酰吗啉; 12 三唑酮; 13 三唑磷。

图1 aTFME-HPLC-MS/MS 方法检测农药残留示意图

Fig.1 Schematic diagram of detection of pesticide residues by aTFME-HPLC-MS/MS method

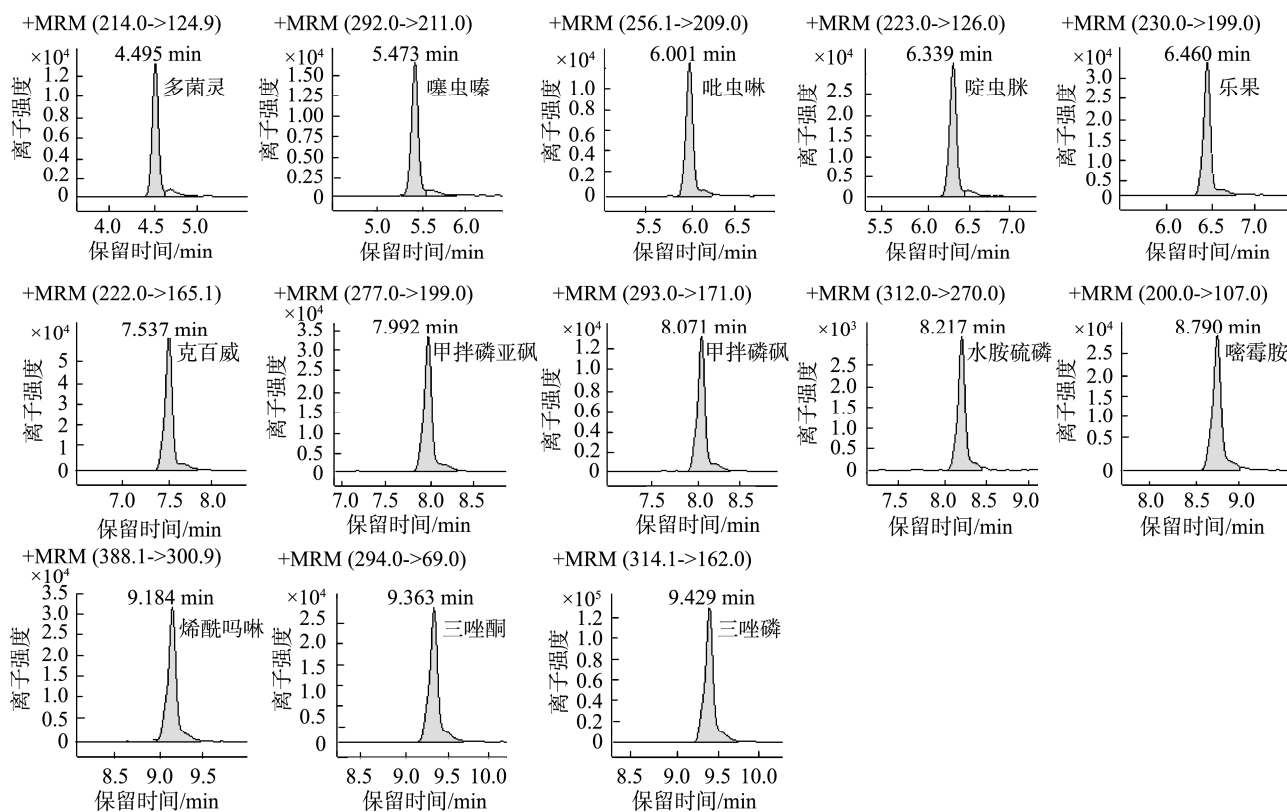


图 2 13 种农药化合物多反应监测图
Fig.2 MRM chromatograms of 13 kinds of pesticides

2.2 实验条件优化

2.2.1 薄膜材料与吸附时间的优化

薄膜材料的选择是 aTFME 前处理中十分关键的步骤。依据亲疏水平衡(hydrophile-lipophile balance, HLB)与强阴离子交换(strong anion exchange, SAX)作用, 选择以二乙烯基苯-乙烯基吡咯烷酮和季铵键合硅胶作为薄膜材料, 加入聚丙烯腈(polyacrylonitrile, PAN)分别制备的 PAN-HLB、PAN-SAX, 考察这两种 aTFME 薄膜对 13 种农药化合物的吸附能力。取 aTFME 薄膜活化后, 向 96 深孔板加入提取液 1 mL, 850 r/min 振荡吸附 60 min; 加入洗脱液(乙腈:水=16:4, V:V, 下同)1 mL, 850 r/min 振荡洗脱 60 min。结果如图 3A 所示, PAN-HLB 对 13 种农药化合物的吸附效果优于 PAN-SAX, 吸附率为 62%~110%, PAN-SAX 的吸附率均低于 13%。相同实验操作下, 结果相差较大, 可能由于农药化合物在水溶剂中的极性有关。PAN-HLB 存在亲水与疏水两种功能基团, 13 种农药化合物含有的磷酸酯基、氨基、咪唑基等极性基团以及苯基、氯苯基等非极性基团与 PAN-HLB 中吡咯烷酮极性基团和二乙烯基苯非极性基团同时产生吸附作用力, 因此农药化合物被不断捕获至 PAN-HLB。PAN-SAX 与 13 种农药化合物产生的阴离子交换作用在实验中则表现不佳。因此选择 PAN-HLB 作为

aTFME 薄膜进行后续实验。

本研究中 13 种农药化合物在提取液与 aTFME 薄膜会达到吸附平衡, 平衡时 aTFME 薄膜对农药化合物的吸附量达到最大值。考察不同吸附时间(5~60 min)对 13 种农药化合物的吸附影响。结果如图 3B 所示: 5~30 min 内 13 种农药化合物吸附率不断增加, 30 min 时吸附率达到 76%~120%。增大吸附时长至 60 min, 7 种农药化合物的吸附率有不同程度改变, 多菌灵、啉霉胺、烯酰吗啉、三唑磷吸附降低幅度为 8%~17%, 噻虫嗪、甲拌磷亚砷、甲拌磷砷吸附增加幅度为 3%~12%, 整体而言吸附 60 min 时 13 种农药化合物吸附率最高, 因此本研究选择最佳吸附时间为 60 min。

2.2.2 提取液酸碱度的优化

提取液 pH 会影响农药化合物离子强度, 可能会影响 aTFME 吸附效率。基于样品基质不同的 pH[梨(pH 4.52)、大白菜(pH 5.92)、茶汤(pH 6.03)], 以 50 mmol/L 乙酸调节纯水 pH, 分别考察 pH 5.5 与 pH 7.0 对 13 种农药化合物吸附效率的影响。选用 PAN-HLB 作为 aTFME 薄膜, 850 r/min 振荡吸附 30 min, 加入洗脱液(乙腈:水=16:4, V:V, 下同)1 mL, 850 r/min 振荡洗脱 1 h。结果图 4 显示: 13 种农药在溶液 pH 7.0 和 pH 5.5 的回收率结果差异不显著, 表明降低提取液 pH 对结果无明显影响, 出于简化实验步骤原则, 确定不调节 pH 进行后续优化。

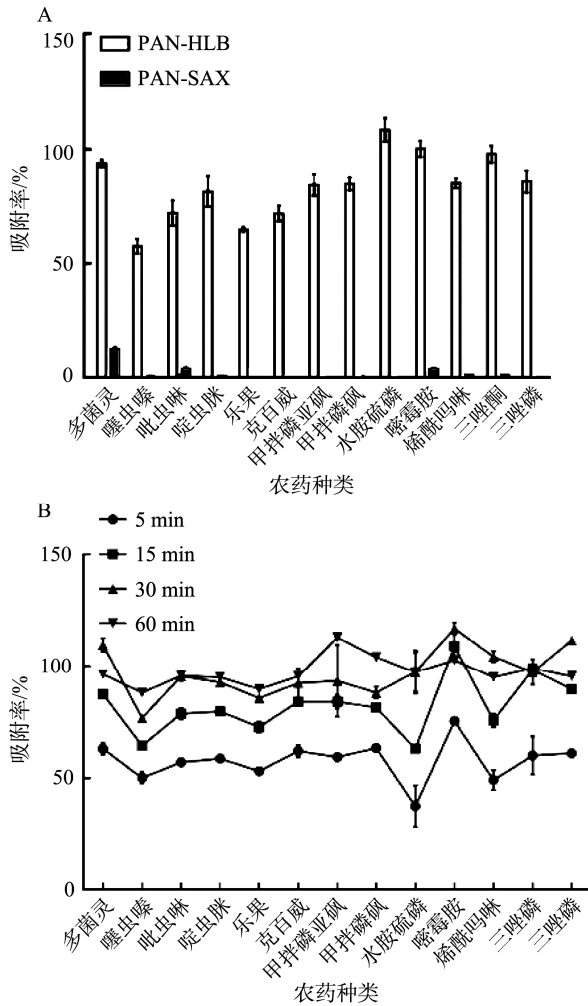
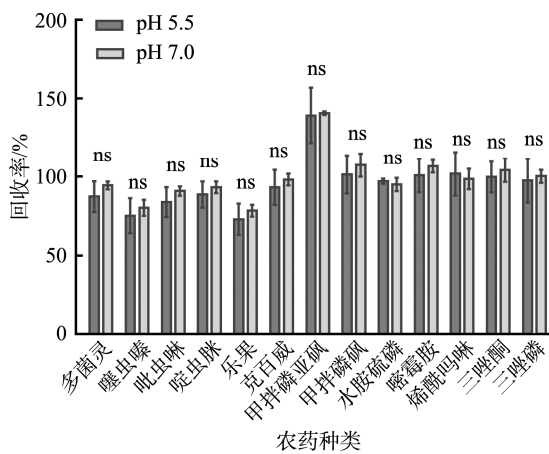


图 3 薄膜材料(A)和吸附时长(B)对 13 种农药响应值影响($n=3$)
Fig.3 Effects of film materials (A) and adsorption time (B) on the response of 13 kinds of pesticides ($n=3$)

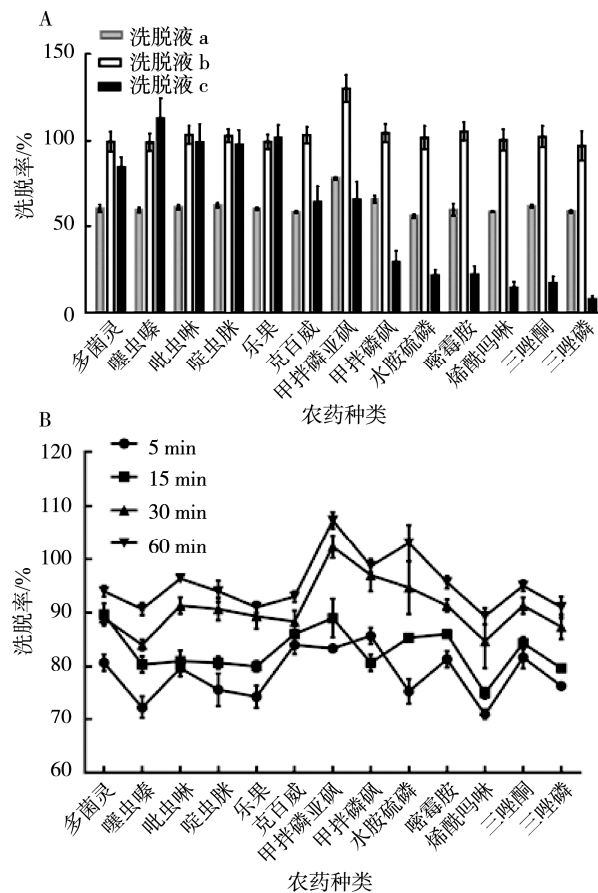


注: ns 为无显著性差异, $P>0.05$ 。
图 4 pH 对 13 种农药响应值影响($n=3$)
Fig.4 Effects of pH on the response of 13 kinds of pesticides ($n=3$)

2.2.3 洗脱液与洗脱时间的优化

使用乙腈、甲醇、水配制 3 种洗脱液: a(乙腈:水=16:4); b(乙腈:甲醇:水=17:2:1); c(甲醇), 分别考察这 3 种洗脱液对 13 种农药的洗脱能力。选用 PAN-HLB 作为 aTFME 薄膜, 850 r/min 振荡吸附 30 min, 加入上述 3 种洗脱液各 1 mL, 850 r/min 振荡洗脱 1 h。结果表明(图 5A): 洗脱液 c 的洗脱效果不理想, 对 6 种农药化合物洗脱率小于 30%; 洗脱液 a 对 13 种农药化合物洗脱率有所提高, 但仍低于 70%; 洗脱液 b 对 13 种农药化合物洗脱率为 90%~120%, 表明该配比的洗脱液能够满足所有目标物由 aTFME 薄膜向洗脱液的洗脱。因此, 选择乙腈:甲醇:水=17:2:1 作为 13 种农药化合物的洗脱液。

考察不同洗脱时间(5~60 min)对 13 种农药化合物洗脱影响。结果见图 5B, 洗脱 aTFME 薄膜 5 min 时, 13 种农药化合物的洗脱率为 70%~86%, 表明大部分农药化合物在短时间内即可被洗脱; 增加洗脱时间至 30 min, 13 种农药化合物的洗脱率提高至 83%~104%; 继续增加时长至 60 min, 13 种农药化合物洗脱率增加幅度较小。为提高整体效率, 选择 30 min 作为最佳洗脱时长。



注: a 为乙腈:水=16:4; b 为乙腈:甲醇:水=17:2:1; c 为甲醇。
图 5 不同洗脱液(A)和洗脱时长(B)对 13 种农药响应值影响($n=3$)
Fig.5 Effects of different eluents (A) and elution time (B) on the response of 13 kinds of pesticides ($n=3$)

2.3 方法确证

2.3.1 基质效应

梨、大白菜、茶这 3 种样品中存在大量生物活性物质,包括有机酸、黄酮类、多酚类等,可能增强或抑制农药化合物离子强度从而产生基质效应(matrix effects, ME)^[30-32],对最终检测响应值造成影响。根据公式 $ME/\% = B/A \times 100\%$ (A 为溶剂标响应值, B 为基质标响应值),当 $|ME-1| \leq 20\%$, 则该样品无基质效应;当 $20\% < |ME-1| \leq 50\%$, 存在中等基质效应;当 $|ME-1| > 50\%$, 则有较强基质效应。将 3 种样品进行 aTFME-HPLC-MS/MS, 依据公式 $ME/\% = B/A \times 100\%$ 计算 ME 平均值($n=3$), 根据表 3 响应值结果可以看出 13 种农药在 3 种基质中表现出不同基质效应, 在茶基质中 8 种农药表现为无基质效应, 5 种农药为中等基质效应; 在梨基质中 6 种农药表现为无基质效应, 7 种农药为中等基质效应; 在大白菜基质中 7 种农药表现为无基质效应, 6 种农药为中等基质效应。

表 3 样品对 13 种农药基质效应
Table 3 Matrix effects of samples on 13 kinds of pesticides

化合物	ME/%		
	茶	梨	大白菜
多菌灵	88.3	85.4	91.6
噻虫嗪	81.8	87.2	91.9
吡虫啉	71.8	74.4	99.4
啶虫脒	78.0	113.5	99.0
乐果	71.4	73.7	101.5
克百威	140.5	77.4	146.7
甲拌磷亚砷	102.3	79.0	114.2
甲拌磷砷	105.7	76.3	120.6
水胺硫磷	94.2	67.6	69.9
啉霉胺	103.2	80.2	127.2
烯酰吗啉	77.7	76.1	62.8
三唑酮	103.5	81.6	128.5
三唑磷	98.2	80.5	119.5

2.3.2 基质效应下线性关系

为降低基质效应并提高检测准确度, 实验中建立基质匹配标准曲线对样品检测结果进行校正。将空白样品按照 1.3.3 中 aTFME 提取方法处理, 制得 3 种空白样品提取液, 向 10 mL 容量瓶加入 0.5 mL 农药储备液, 加空白样品提取液定容至刻度, 13 种农药浓度为 0.1 mg/L, 梯度稀释得到 3 种 0.050、0.020、0.010、0.005 mg/L 的系列基质匹配标准工作溶液。在最佳实验条件下, 以 HPLC-MS/MS 响应值为纵坐标(Y), 农药质量浓度为横坐标(X , mg/L), 计算出溶剂线性方程与基质线性方程见表 4, 在 0.005~0.100 mg/L 范围内, 13 种农药在 3 种农产品中表现出良好线性关系, 相关系数(r^2)均大于 0.99; 根据 3 倍信噪比和 10 倍信噪比计算检出限和定量限, 13 种农药检出限为 0.08~1.20 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 定量限为 0.20~4.00 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 满足 GB 2763—2021 中关于 13 种农药最大残留限量值要求。检测茶、梨、大白菜这 3 种样品时可依据基质加标曲线对检测结果进行校正。

2.3.3 方法准确度与样品检测结果

根据 GB 2763—2021 对 13 种农药化合物规定的 MRL 为 0.01~3 mg/kg, 选择低、中、高 0.01、0.05、0.50 mg/kg 3 个水平进行添加回收实验。取样品各 10 g, 分别加入 13 种农药标准品储备液 5、25、250 μL , 500 r/min 振荡 30 min, 之后经过 aTFME-HPLC-MS/MS 分析。依据基质加标曲线计算 13 种农药化合物的回收率于表 5 所示, 梨、大白菜、茶中 3 个水平农药回收率为 70%~114%、72%~121%、70%~121%, 相对标准偏差低于 12% ($n=3$), 总体准确度较好。随机抽取 3 种市售样品进行检测, 结果见表 6, 在梨中检测到多菌灵残留量为 32.2 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 其余 12 种农药残留均低于 5.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 样品均符合 GB 2763—2021 的规定。

表 4 13 种农药溶剂与基质线性方程
Table 4 Linear equations of 13 kinds of pesticide solvents and matrices

化合物	标准线性方程	茶基质线性方程	梨基质线性方程	大白菜基质线性方程
多菌灵	$Y=5442.9X+3574$	$Y=9539.3X+1177.4$	$Y=6465.5X+78012$	$Y=8797.2X-2676$
噻虫嗪	$Y=2495.5X-3451.7$	$Y=7289.3X+28179$	$Y=6210.6X+35418$	$Y=7869.8X+5822.9$
吡虫啉	$Y=2212.3X-5244.4$	$Y=5027.1X-1066.9$	$Y=3839.3X+13818$	$Y=5945.1X+3311.3$
啶虫脒	$Y=4470.5X-9573.9$	$Y=15200X+25584$	$Y=15905.1X+149382$	$Y=17595X+11087$
乐果	$Y=5465.4X-7873.5$	$Y=17910X+13204$	$Y=8894.8X+22016$	$Y=22612X+16519$
克百威	$Y=13279X-20807$	$Y=56114X+37935$	$Y=16641X+48468$	$Y=50175X+22504$
甲拌磷亚砷	$Y=8434.4X-9745.6$	$Y=33878X+49476$	$Y=12185X+36537$	$Y=33757X+25399$
甲拌磷砷	$Y=3165.6X-4933.5$	$Y=16412X+28434$	$Y=4159.7X+16132$	$Y=16199X+2001.8$
水胺硫磷	$Y=8814.61X-738.77$	$Y=1569.1X+18.3$	$Y=8863.2X+25032$	$Y=1042.4X-1723.6$
啉霉胺	$Y=8695.9X-16975$	$Y=6695.9X-16975$	$Y=9707.96X+2085.8$	$Y=6733.54X-1995.1$
烯酰吗啉	$Y=11057X-24164$	$Y=4495.4X-3285.3$	$Y=2864.6X-3593.7$	$Y=4668.5X-3739.8$
三唑酮	$Y=9955X-20846$	$Y=19208X+229.03$	$Y=16190X-2281.1$	$Y=20503X-23335$
三唑磷	$Y=40328X-78534$	$Y=112903X+34432$	$Y=90587X+940.08$	$Y=119536X-19956$

表 5 13 种农药在基质中回收率与相对标准偏差($n=3$)
Table 5 Recoveries and relative standard deviations of 13 kinds of pesticides in matrix ($n=3$)

化合物	添加水平 (mg/kg)	茶		梨		大白菜	
		回收率 /%	相对标准偏差 /%	回收率 /%	相对标准偏差 /%	回收率 /%	相对标准偏差 /%
多菌灵	0.5,0.05,0.01	121,101,108	2,2,8	78,76,74	2,11,4	118,116,115	2,1,2
噻虫嗪	0.5,0.05,0.01	109,82,92	2,4,12	110,96,99	2,8,7	94,92,91	2,1,3
吡虫啉	0.5,0.05,0.01	115,104,116	1,2,11	76,74,76	3,5,2	121,119,121	6,4,1
啶虫脒	0.5,0.05,0.01	105,88,92	3,2,10	72,70,71	2,3,2	113,113,119	2,4,7
乐果	0.5,0.05,0.01	120,94,103	1,2,11	87,93,88	1,5,4	93,91,90	1,2,2
克百威	0.5,0.05,0.01	114,107,116	1,3,10	114,111,111	3,2,1	118,119,115	1,1,4
甲拌磷亚砷	0.5,0.05,0.01	95,79,87	1,2,7	92,93,91	2,4,1	121,110,116	2,2,3
甲拌磷砷	0.5,0.05,0.01	74,72,74	2,2,3	86,85,86	4,3,0	86,91,84	2,2,6
水胺硫磷	0.5,0.05,0.01	102,86,93	3,2,6	111,100,107	2,9,5	91,95,95	2,1,3
啉霉胺	0.5,0.05,0.01	121,109,113	1,2,4	107,107,104	1,6,3	107,109,105	1,3,3
烯酰吗啉	0.5,0.05,0.01	112,107,112	2,1,3	79,80,79	4,1,0	88,87,87	4,6,0
三唑酮	0.5,0.05,0.01	107,117,107	1,3,6	92,101,94	2,8,5	121,119,117	3,2,2
三唑磷	0.5,0.05,0.01	78,70,93	4,1,5	76,87,87	1,6,11	73,72,103	2,3,3

表 6 3 种样品检测结果
Table 6 Test results of 3 kinds of samples

化合物	样品农药残留量/($\mu\text{g}/\text{kg}$)		
	茶	梨	大白菜
多菌灵	3.2	32.2	5.2
噻虫嗪	1.3	0.9	1.1
吡虫啉	0.4	4.1	0.7
啶虫脒	4.7	3.2	0.2
乐果	0.3	2.4	0.0
克百威	0.2	0.0	1.0
甲拌磷亚砷	0.1	0.0	2.3
甲拌磷砷	0.4	0.0	0.0
水胺硫磷	0.3	0.0	1.1
啉霉胺	1.8	0.1	1.9
烯酰吗啉	0.3	0.3	1.2
三唑酮	0.0	0.0	1.3
三唑磷	0.0	2.8	2.0

3 结 论

本研究利用 aTFME 对梨、大白菜、茶进行前处理,对吸附材料、洗脱液等关键参数进行优化,建立了 13 种目标农药化合物的 aTFME-HPLC-MS/MS 检测方法。相较于 SPE, aTFME 整合了样品提取、样品分离、净化这些前处理步骤,操作更简便;可同时对样品进行批量处理,处理总时长为 1.5 h,从而提高了样品检测效率;相较于 QChERS, aTFME 在萃取过程中不需要大量乙腈与盐提取,所需洗脱液为 1 mL,降低了有机溶剂用量; aTFME 将吸附材料固定在不锈钢片表面,洗脱后能够重复利用,更加绿色环保。由于样品基质复杂,基质效应对部分农药的检测还存在较大的影响,为此本研究建立了样品的基质匹配标准曲线对检测结果进行校正,结果显示:校正后对 13

种农药化合物的回收率与准确度较好。基于上述, aTFME 与 HPLC-MS/MS 联用,具有高效、环保、重复利用优势,在农产品中农药多残留的快速检测方面具有良好应用表现。

参考文献

- [1] LI C, ZHU H, LI C, *et al.* The present situation of pesticide residues in China and their removal and transformation during food processing [J]. *Food Chem*, 2021, 354: 129552.
- [2] 丁浩东, 万红友, 秦攀, 等. 环境中有机磷农药污染状况、来源及风险评估[J]. *环境化学*, 2019, 38(3): 463-479.
DING HD, WAN HY, QIN P, *et al.* Occurrence, sources and risk assessment of organophosphorus pesticides in the environment, China [J]. *Environ Chem*, 2019, 38(3): 463-479.
- [3] LI F, YUAN Y, MENG P, *et al.* Probabilistic acute risk assessment of cumulative exposure to organophosphorus and carbamate pesticides from dietary vegetables and fruits in Shanghai populations [J]. *Food Addit Contam A*, 2017, 34(5): 819-831.
- [4] 张明浩, 康珊珊, 郭靖立, 等. 新烟碱类杀虫剂在农药复配中的应用进展[J]. *农药*, 2022, 61(5): 313-320.
ZHANG MH, KANG SS, GUO JL, *et al.* Application progress of neonicotinoid insecticides in pesticide combination [J]. *Agrochemicals*, 2022, 61(5): 313-320.
- [5] PARRA-ARROYO L, GONZÁLEZ-GONZÁLEZ RB, CASTILLO-ZACARÍAS C, *et al.* Highly hazardous pesticides and related pollutants: Toxicological, regulatory, and analytical aspects [J]. *Sci Total Environ*, 2022, 807: 151879.
- [6] HAN W, TIAN Y, SHEN X. Human exposure to neonicotinoid insecticides and the evaluation of their potential toxicity: An overview [J]. *Chemosphere*, 2018, 192: 59-65.
- [7] 谭颖, 张琪, 赵成, 等. 蔬菜水果中的新烟碱类农药残留量与人群膳食暴露健康风险评估[J]. *生态毒理学报*, 2016, 11(6): 67-81.
TAN Y, ZHANG Q, ZHAO C, *et al.* Residues of neonicotinoid pesticides in vegetables and fruit and health risk assessment of human exposure via food intake [J]. *Asian J Ecotoxicol*, 2016, 11(6): 67-81.
- [8] SHARMA D, NAGPAL A, PAKADE YB, *et al.* Analytical methods for

- estimation of organophosphorus pesticide residues in fruits and vegetables: A review [J]. *Talanta*, 2010, 82(4): 1077–1089.
- [9] 陈溪, 董振霖, 那晗, 等. 农药多残留高通量筛查分析技术研究进展 [J]. *农药*, 2016, 55(2): 91–95.
CHEN X, DONG ZL, NA H, *et al.* Research progress of mult-pesticide residues high-throughput screening analysis technique [J]. *Agrochemicals*, 2016, 55(2): 91–95.
- [10] DONGWEI W, CHANG L, ZHIQIANG Z, *et al.* Recent advances in rapid detection of pesticide residues [J]. *Chin J Pestic Sci*, 2019, 21(5–6): 852–864.
- [11] SONG Y, MA R, HAO L, *et al.* Application of covalent organic framework as the adsorbent for solid-phase extraction of trace levels of pesticide residues prior to high-performance liquid chromatography-ultraviolet detection [J]. *J Chromatogr A*, 2018, 1572: 20–26.
- [12] 谭锦萍. GC 和 GC-MS/MS 法高通量检测果蔬中农药多残留及其应用研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2019.
TAN JP. Study on high throughput determination of pesticides multi-residues in fruits and vegetables by GC and GC-MS/MS and their application [D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2019.
- [13] LIU X, LIU Z, BIAN L, *et al.* Determination of pesticide residues in chilli and Sichuan pepper by high performance liquid chromatography quadrupole time-of-flight mass spectrometry [J]. *Food Chem*, 2022, 387: 132915.
- [14] STACHNIUK A, SZMAGARA A, CZECZKO R, *et al.* LC-MS/MS determination of pesticide residues in fruits and vegetables [Z]. 2017.
- [15] NARENDERAN ST, MEYYANATHAN SN, BABU B. Review of pesticide residue analysis in fruits and vegetables. Pre-treatment, extraction and detection techniques [J]. *Food Res Int*, 2020, 133: 109141.
- [16] WAHAB S, MUZAMMIL K, NASIR N, *et al.* Advancement and new trends in analysis of pesticide residues in food: A comprehensive review [J]. *Plants*, 2022, 11(9): 1106.
- [17] 翟荣启, 陈鸽, 徐东辉, 等. 农产品中有机磷农药前处理技术研究进展 [J]. *分析试验室*, 2022, 41(1): 113–124.
ZHAI RQ, CHEN G, XU DH, *et al.* Research progress of pretreatment technology for organophosphorus pesticide in agricultural products [J]. *Chin J Anal Lab*, 2022, 41(1): 113–124.
- [18] QI P, WANG J, LIU Z, *et al.* Integrated QuEChERS strategy for high-throughput multi-pesticide residues analysis of vegetables [J]. *J Chromatogr A*, 2021, 1659: 462589.
- [19] 鹿萌. 新型 MOFs 固相萃取吸附剂的制备及果蔬中农药残留检测应用 [D]. 邯郸: 河北工程大学, 2020.
LU M. Preparation of novel MOFs solid phase extraction adsorbent and its application in detection of pesticide residues in fruits and vegetables [D]. Handan: Hebei University of Engineering, 2020.
- [20] COLUMÉ A, CÁRDENAS S, GALLEGO M, *et al.* Multiresidue screening of pesticides in fruits using an automatic solid-phase extraction system [J]. *J Agric Food Chem*, 2001, 49(3): 1109–1116.
- [21] 王娇, 齐沛沛, 虞森, 等. 基于功能磁性材料和固相微萃取净化富集一体化的茶饮料中三唑类农药残留分析[J]. *农药学报*, 2021, 23(6): 1168–1176.
WANG J, QI PP, YU M, *et al.* Triazole pesticide residues analysis based on functionalized magnetic materials and solid phase microextraction collaborative technology in tea drinks [J]. *Chin J Pestic Sci*, 2021, 23(6): 1168–1176.
- [22] 古飞燕, 邹玉婷, 段宁馨, 等. 茶叶中有机磷农药残留检测前处理技术的研究进展[J]. *食品科技*, 2022, 47(4): 335–341.
GU FY, ZOU YT, DUAN NX, *et al.* Research progress on pretreatment technology of detecting organophosphorus pesticides in tea [J]. *Food Sci Technol*, 2022, 47(4): 335–341.
- [23] ZHANG Z, ZHAO H, SHEN Q, *et al.* High-throughput determination of fungicides in grapes using thin-film microextraction coupled with liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *J Sep Sci*, 2020, 43(8): 1558–1565.
- [24] JIANG R, PAWLISZYN J. Thin-film microextraction offers another geometry for solid-phase microextraction [J]. *Trends Anal Chem*, 2012, 39: 245–253.
- [25] JALILI V, BARKHORDARI A, GHIASVAND A. A comprehensive look at solid-phase microextraction technique: A review of reviews [J]. *Microchem J*, 2020, 152: 104319.
- [26] SHAHRIMAN MS, MOHAMAD S, ZAIN NNM, *et al.* Based polymeric ionic liquid for thin film micro extraction of sulfonamides in environmental water samples prior to HPLC-DAD analysis [J]. *Microchem J*, 2021, 171: 106798.
- [27] 郭志勇, 姚秋虹, 林奇, 等. 薄膜固相微萃取技术的应用进展[J]. *色谱*, 2020, 38(1): 41–49.
GUO ZY, YAO QH, LIN Q, *et al.* Recent advances in the application of thin-film microextraction [J]. *Chin J Chromatogr*, 2020, 38(1): 41–49.
- [28] KASPERKIEWICZ A, GÓMEZ-RÍOS GA, HEIN D, *et al.* Breaching the 10 second barrier of total analysis time for complex matrices via automated coated blade spray [J]. *Anal Chem*, 2019, 91(20): 13039–13046.
- [29] MORADI E, EBRAHIMZADEH H, MEHRANI Z. Electrospun acrylonitrile butadiene styrene nanofiber film as an efficient nanosorbent for head space thin film microextraction of polycyclic aromatic hydrocarbons from water and urine samples [J]. *Talanta*, 2019, 205: 120080.
- [30] 赵婧, 何燕, 钱兵, 等. 热带水果中 5 种农药残留 UPLC-MS/MS 测定的基质效应研究[J]. *热带作物学报*, 2021, 42(6): 1750–1755.
ZHAO J, HE Y, QIAN B, *et al.* Matrix effects in the determination of 5 pesticides in tropical fruits by UPLC-MS/MS [J]. *Chin J Trop Crops*, 2021, 42(6): 1750–1755.
- [31] LÓPEZ SH, SCHOLTEN J, KIEDROWSKA B, *et al.* Method validation and application of a selective multiresidue analysis of highly polar pesticides in food matrices using hydrophilic interaction liquid chromatography and mass spectrometry [J]. *J Chromatogr A*, 2019, 1594: 93–104.
- [32] MATUSZEWSKI BK, CONSTANZER ML, CHAVEZ-ENG CM. Strategies for the assessment of matrix effect in quantitative bioanalytical methods based on HPLC-MS/MS [J]. *Anal Chem*, 2003, 75(13): 3019–3030.

(责任编辑: 韩晓红 张晓寒)

作者简介



张帆, 硕士研究生, 主要研究方向为食品安全检测。

E-mail: 13139600962@139com



李腾飞, 博士, 副教授, 主要研究方向为食品安全检测与控制。

E-mail: litengfei@hebeu.edu.cn