

# 分散固相萃取-气相色谱-串联质谱法同时测定 母乳中 24 种有机氯类农药

吴静薇<sup>1</sup>, 韩沐珂<sup>2</sup>, 尹杰<sup>2\*</sup>, 邵兵<sup>2</sup>

(1. 中国农业大学食品科学与营养工程学院, 北京 100083; 2. 北京市疾病预防控制中心,  
食物中毒诊断溯源技术北京市重点实验室, 北京 100013)

**摘要: 目的** 建立液液萃取-分散固相萃取-气相色谱-串联质谱法(gas chromatography-tandem mass spectrometry, GC-MS/MS)同时测定母乳中 24 种有机氯类农药的分析方法。**方法** 母乳样品用正己烷-丙酮(3:1, *V:V*)超声提取, 提取液冷冻除脂后经 *N*-丙基乙二胺(primary secondary amine, PSA)作为分散固相萃取剂净化, 净化液氮吹复溶后采用 GC-MS/MS 检测, 内标法定量。**结果** 24 种有机氯农药在考察的浓度范围内线性关系良好, 相关系数  $r^2 \geq 0.99$ ; 方法检出限为 0.002~0.500  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , 定量限为 0.006~1.500  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ; 24 种目标物在高中低 3 个不同加标浓度下的回收率为 87.1%~129.0%, 相对标准偏差为 1.9%~13.9%。**结论** 该方法操作便捷、定量准确、灵敏度高, 能够满足母乳样品中 24 种有机氯农药残留的快速检测分析需求, 为监测母乳及婴儿体内的有机氯农药含量提供方法学参考。

**关键词:** 分散固相萃取; 气相色谱-串联质谱法; 母乳; 有机氯农药

## Simultaneous determination of 24 kinds of organochlorine pesticides in breast milk by dispersive solid-phase extraction-gas chromatography-tandem mass spectrometry

WU Jing-Wei<sup>1</sup>, HAN Mu-Ke<sup>2</sup>, YIN Jie<sup>2\*</sup>, SHAO Bing<sup>2</sup>

(1. School of Food Science and Nutrition Engineering, China Agricultural University, Beijing 100083, China;  
2. Beijing Key Laboratory of Food Poisoning Diagnosis Traceability Technology, Beijing Center for Disease Control and Prevention, Beijing 100013, China)

**ABSTRACT: Objective** To establish an analytical method for the simultaneous determination of 24 kinds of organochlorine pesticides in breast milk by liquid-liquid extraction-dispersed solid-phase extraction-gas chromatography-tandem mass spectrometry (GC-MS/MS). **Methods** Breast milk samples were extracted by ultrasound with *n*-hexane-acetone (3:1, *V:V*), the extraction liquid was frozen to remove fat, and then purified by primary secondary amine (PSA) as a dispersed solid phase extraction agent. The purified liquid nitrogen was blown and redissolved, and then detected by GC-MS/MS, and quantified by internal standard method. **Results** The linear relationships of the 24 kinds of organochlorine pesticides were good within the investigated concentration ranges, and the correlation coefficients  $r^2$  were all equal or greater than 0.99; the limits of detection were 0.002~0.500  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , and

基金项目: 国家重点研发计划项目(2019YFC1605100)

Fund: Supported by the National Key Research and Development Program of China (2019YFC1605100)

\*通信作者: 尹杰, 副研究员, 主要研究方向为食品污染物检测技术研究。E-mail: arnold\_jay@163.com

\*Corresponding author: YIN Jie, Associate Professor, Beijing Center for Disease Control and Prevention, No.16, Hepingli Middle Street, Dongcheng District, Beijing 100013, China. E-mail: arnold\_jay@163.com

the limits of quantitation were 0.006–1.500  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ; the recoveries of the 24 kinds of analytes at the 3 spiked concentrations were 87.1%–129.0% and the relative standard deviations were 1.9%–13.9%. **Conclusion** This method is convenient, accurate and sensitive, and can meet the requirements of rapid detection and analysis of 24 kinds of organochlorine pesticide residues in breast milk samples, providing methodological reference for monitoring the content of organochlorine pesticides in breast milk and infants.

**KEY WORDS:** dispersed solid-phase extraction; gas chromatography-tandem mass spectrometry; breast milk; organochlorine pesticides

## 0 引言

有机氯类农药(organochlorine pesticides, OCPs)是一种含氯元素的杀虫剂。根据其合成原料的不同主要分为两大类:一类以苯为原料,如滴滴涕和六六六等;另一类以环戊二烯为原料,常见的有七氯、氯丹等<sup>[1]</sup>。有机氯农药由于其挥发缓慢、脂溶性强、不易分解的特点,不仅可以在农产品种植过程中作为杀虫剂使用,还可以用作果蔗一类需长途运输的农产品的防腐剂<sup>[2–3]</sup>。由于化学性质稳定,该类物质在水、污泥、土壤和空气等环境介质中可富集并持续存在长达数年,能够引发较为严重的环境污染问题<sup>[4–5]</sup>。虽然自 80 年代以来我国已经陆续禁止了 OCPs 的使用<sup>[6]</sup>,但近年来对国内太湖、清水河等生态发展区域的检测仍发现了大量 OCPs 的历史残留<sup>[7–8]</sup>。

现有研究表明,人体可通过饮食摄入、粉尘吸入及皮肤接触等多种方式暴露于环境中 OCPs,长期低剂量暴露可能给人体带来诸多潜在的健康危害,包括内分泌干扰、生殖紊乱、血压失调、老年痴呆症发病率上升甚至致癌风险等<sup>[9–14]</sup>。同时,有研究表明有机氯农药会影响孩子的神经行为发育,同时在母婴暴露后对孩子的肥胖症可能存在潜在影响<sup>[15–16]</sup>。鉴于此,环境中 OCPs 污染导致的人群暴露问题,尤其是生命早期如婴儿等敏感时期的暴露成为了近年来科学界关注的热点。而母乳是婴儿最重要的膳食来源之一,监测母乳中 OCPs 的污染状况对进一步评估该类化合物对婴儿群体的健康风险具有重要意义。

开展 OCPs 人群暴露状况监测需要有准确可靠的分析方法作为基础。目前,国内有关 OCPs 的多残留分析方法主要针对农产品和环境样品<sup>[17–19]</sup>,该类样品的前处理方法以溶液提取、固相萃取<sup>[17–18]</sup>、凝胶渗透色谱法<sup>[17–18]</sup>等为主,而仪器方法则普遍使用气相色谱法或气相色谱-质谱法,基本形成了较为成熟的技术体系<sup>[20–21]</sup>。与此相比,针对人体生物样本尤其是母乳样品的多残留分析方法还比较缺乏。一方面,母乳是一种复杂的生物流体,含有大量的蛋白质及脂类干扰物,对前处理方法的净化性能要求较高;另一方面,母乳等生物样品多用于大规模的人群监测项目,样品用量往往较小,对分析方法操作的便捷性和灵敏度有更高要求。倪蓉<sup>[22]</sup>采用加速溶剂萃取提取,凝胶渗透色谱和

固相萃取联合净化的方式建立了母乳中 27 种 OCPs 的多残留分析方法,该方法灵敏度虽高(0.066~1.700  $\text{ng}/\text{kg}$ ),但操作过程烦琐且对前处理设备有一定要求,不适合大批量样本的分析。邝丽红<sup>[23]</sup>建立的母乳前处理方法简便但检出限较高,不适用于低浓度样品的检测。本研究在常用的 QuEChERS 提取方法的基础之上,利用冷冻除脂进一步减少杂质,结合气相色谱-串联质谱法检测,建立母乳中 24 种 OCPs 的简单、灵敏、准确的分析方法,为开展婴儿 OCPs 暴露状况监测提供方法学参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

母乳样品由北京市哺乳期健康女性提供,采集后保存在 $-80^{\circ}\text{C}$ 直至分析。

N-丙基乙二胺(primary secondary amine, PSA)吸附剂(美国安捷伦科技有限公司);十八烷基硅烷键合硅胶(octadecyl silane bonded silica gel,  $\text{C}_{18}$ )吸附剂(美国 SUPELCO 公司);正己烷、丙酮(色谱纯,北京迪科马科技有限公司);实验用水为美国 Millipore-Q 制备的超纯水;IS-二嗪农、IS-毒死蜱、IS-醚菊酯标准品(纯度 $\geq 98\%$ ,上海甄准生物科技有限公司);D10-苾(纯度 $\geq 98\%$ ,加拿大 TRC 公司);碳 13 同位素标记的双氯苯基二氯乙烯、双氯苯基二氯乙烷、双对氯苯基三氯乙烷( $p,p'$ -DDE- $^{13}\text{C}_{12}$ 、 $p,p'$ -DDD- $^{13}\text{C}_{12}$ 、 $p,p'$ -DDT- $^{13}\text{C}_{12}$ )标准品(浓度 $\geq 99\%$ ,美国 CIL 公司);丙酮中  $\alpha$ -六六六、 $\beta$ -六六六等 34 种农药混合标准溶液(100  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ,天津阿尔塔科技有限公司)。

### 1.2 仪器与设备

GCMS-TQ8050 NX 三重四极杆质谱仪、GC-2030 气相色谱仪(日本 SHIMADZU 公司);AL204-IC 天平(精度 0.001 g,瑞士 Mettler Toledo 公司);X-30R 台式冷冻离心机(美国 Beckman 公司);N-EVAP 116 氮吹仪(美国 Quality Laboratory 公司);SH-Rxi-5Sil MS 毛细管色谱柱(30  $\text{m}\times 0.25\text{ mm}$ , 0.25  $\mu\text{m}$ , 美国安捷伦科技有限公司)。

### 1.3 标准溶液制备

用色谱级正己烷稀释质量浓度为 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的农药混合标准溶液,配制成浓度为 0.1、0.2、0.5、1.0、2.0、5.0、

10.0、20.0、50.0、100.0、200.0  $\mu\text{g}/\text{kg}$  的标准系列溶液, 标准系列置于安捷伦 2 mL 棕色螺口进样瓶中, 配备安捷伦蓝色螺口瓶盖。

## 1.4 实验方法

### 1.4.1 样品提取

准确称取涡旋混匀的母乳样品 1 g, 置于 15 mL 聚丙烯离心管中, 加入内标混合工作液 50  $\mu\text{L}$ , 混匀。加入 10 mL 正己烷-丙酮溶液(3:1, *V/V*), 涡旋均匀后超声提取 10 min, 4°C 4000 r/min 离心 10 min。

### 1.4.2 净化

将 1.4.1 中所得液体置于-20°C 冷冻 1 h, 取上清液置于 15 mL 聚丙烯离心管中。准确称取 PSA 吸附剂 200 mg(精确至 0.01 g) 加入离心管, 涡旋振荡 5 min, 6000 r/min 离心 10 min, 收集上清液于 10 mL 玻璃氮吹管, 38°C 水浴下氮气吹至近干, 加入 0.5 mL 正己烷复溶。复溶液转移至 2 mL 聚丙烯离心管, 在 14000 r/min 下离心 5 min, 上清液转移至玻璃进样小瓶中, 供仪器测定。

### 1.4.3 仪器条件

#### (1) 气相色谱条件

SH-Rxi-5Sil MS 毛细管色谱柱(30 m $\times$ 0.25 mm, 0.25  $\mu\text{m}$ ); 载气: 氦气, 纯度 $\geq$ 99.999%; 进样模式: 不分流; 色谱柱温度: 初始温度 70°C, 保持 2 min, 以 25°C/min 升至 150°C; 以 3°C/min 升至 200°C, 保持 2 min; 以 8°C/min 升至 300°C, 保持 6 min。柱流量: 1.2 mL/min; 进样口温度: 270°C; 进样量: 1  $\mu\text{L}$ 。

#### (2) 质谱条件

电子轰击离子源(electron ionization, EI); 电离能量: 70 eV; 离子源温度: 300°C, 传输线温度: 300°C; 检测器增益: 0.90 kV +0.30 kV; 扫描模式: 多反应监测(multiple reaction monitoring, MRM)模式; 内标法定量; 溶剂延迟: 5 min。各目标物及其内标物的定性定量离子的碰撞能量信息见表 1。

表 1 24 种 OCPs 及 7 种内标物的 GC-MS/MS 分析参数  
Table 1 GC-MS/MS analysis parameters of 24 kinds of OCPs and 7 kinds of internal standards

序号	目标物	离子对( <i>m/z</i> )	碰撞能量/eV
1	五氯苯	249.9>214.9*, 249.9>178.9	18, 28
2	六氯苯	283.8>248.8*, 283.8>213.8	24, 28
3	五氯硝基苯	294.8>236.8*, 294.8>264.8	16, 12
4	七氯	271.8>236.9*, 273.8>238.9	20, 16
5	$\alpha$ -六六六	180.9>144.9*, 218.9>182.9	16, 8
6	$\beta$ -六六六	180.9>144.9*, 218.9>182.9	16, 8
7	$\gamma$ -六六六	180.9>144.9*, 218.9>182.9	16, 8
8	$\delta$ -六六六	180.9>144.9*, 218.9>182.9	16, 8
9	IS-二嗪农 (内标 1)	153>138.1*, 138>85.1	9, 15
10	艾氏剂	262.9>191*, 262.9>193	34, 28

表 1(续)

序号	目标物	离子对( <i>m/z</i> )	碰撞能量/eV
11	IS-毒死蜱 (内标 2)	198>169.9*, 200>171.9	15, 15
12	顺式氯丹	372.8>263.9*, 374.8>265.9	28, 26
13	反式氯丹	372.8>263.9*, 374.8>265.9	28, 26
14	反式九氯	406.8>299.9*, 406.8>334.9	24, 16
15	o,p'-滴滴伊	246>176*, 248>176	30, 28
16	D10-莠 (内标 3)	212>208*, 212>210	42, 33
17	p,p'-滴滴伊	246>176*, 317.9>248	30, 24
18	o,p'-滴滴滴	235>165*, 237>165	24, 28
19	异狄氏剂	262.9>191*, 262.9>193	30, 28
20	$\beta$ -硫丹	194.9>160*, 194.9>125	8, 24
21	顺式九氯	406.8>299.9*, 406.8>334.9	24, 16
22	p,p'-DDE- <sup>13</sup> C <sub>12</sub> (内标 4)	258>188*, 260>188.1	39, 30
23	p,p'-滴滴滴	235>165*, 237>165	24, 28
24	o,p'-滴滴涕	235>165*, 237>165	24, 28
25	p,p'-DDD- <sup>13</sup> C <sub>12</sub> (内标 5)	247>177.1*, 249>177.1	33, 27
26	p,p'-滴滴涕	235>165*, 237>165	24, 28
27	异狄氏剂酮	317>245*, 317>101	15, 25
28	甲氧滴滴涕	227.1>169.1*, 227.1>212.1	24, 14
29	p,p'-DDT- <sup>13</sup> C <sub>12</sub> (内标 6)	247>177.1*, 249>177.1	24, 27
30	灭蚁灵	271.8>236.8*, 273.8>238.8	18, 18
31	IS-醚菊酯 (内标 7)	168>136.1*, 168>108.1	12, 21

注: \*表示定量离子对; 以 7 个内标位置区分 7 个区间, 每一区间目标物对应同一内标物。

## 1.5 数据处理

采用 Shimadzu GCMS 再解析分析软件处理样品检测数据, 根据目标化合物的出峰时间以及两对监测离子进行定性, 利用软件绘制基质匹配溶液曲线并根据曲线对样品中目标化合物进行定量。采用 Microsoft Excel 2019 对实验数据进行分析。

## 1.6 质量控制

本研究中所使用离心管均为洁净一次性聚丙烯离心管, 所使用的玻璃器皿均经充分清洗烘干, 临用前使用超纯水和正己烷依次涮洗并晾干。每一批样品(10 个/批)分析均加做一个过程空白样品和一个空白基质加标样品, 用以监测背景污染的水平和方法准确性。所有待测样品中均添加同位素标记的内标溶液, 用以校正前处理过程中目标物的损失和样品基质对仪器响应值的干扰。

## 2 结果与分析

### 2.1 标准溶液及母乳样品中目标化合物的总离子流色谱图

按照上述方法对 24 种 OCPs 的混合标准溶液及母乳样品加标溶液(加标浓度 10  $\mu\text{g}/\text{kg}$ )进行前处理和上机分析,

结果如图 1、2 所示。从图 1、2 中可以看出, 各目标化合物在本研究优化的质谱条件和程序升温方法下可以获得较为理想的峰型和响应值, 同时各目标物之间以及目标物和母乳样品中干扰物之间基本实现了较好的分离。由此可知, 本方法通过气相色谱-三重四极杆串联质谱法获得了较高的选择性和特异性, 保证了样品中目标物定量结果的准确性。

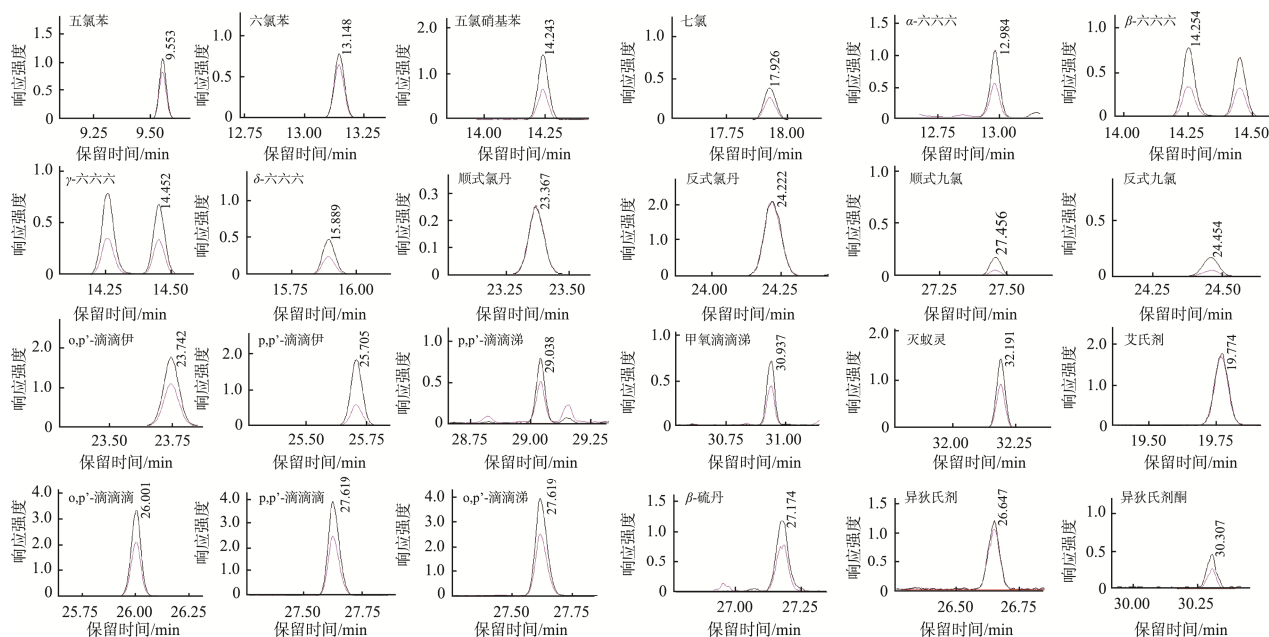


图 1 目标化合物标准溶液总离子色谱图(10  $\mu\text{g}/\text{kg}$ )

Fig.1 Total ion chromatograms of standard solutions of the target compounds (10  $\mu\text{g}/\text{kg}$ )

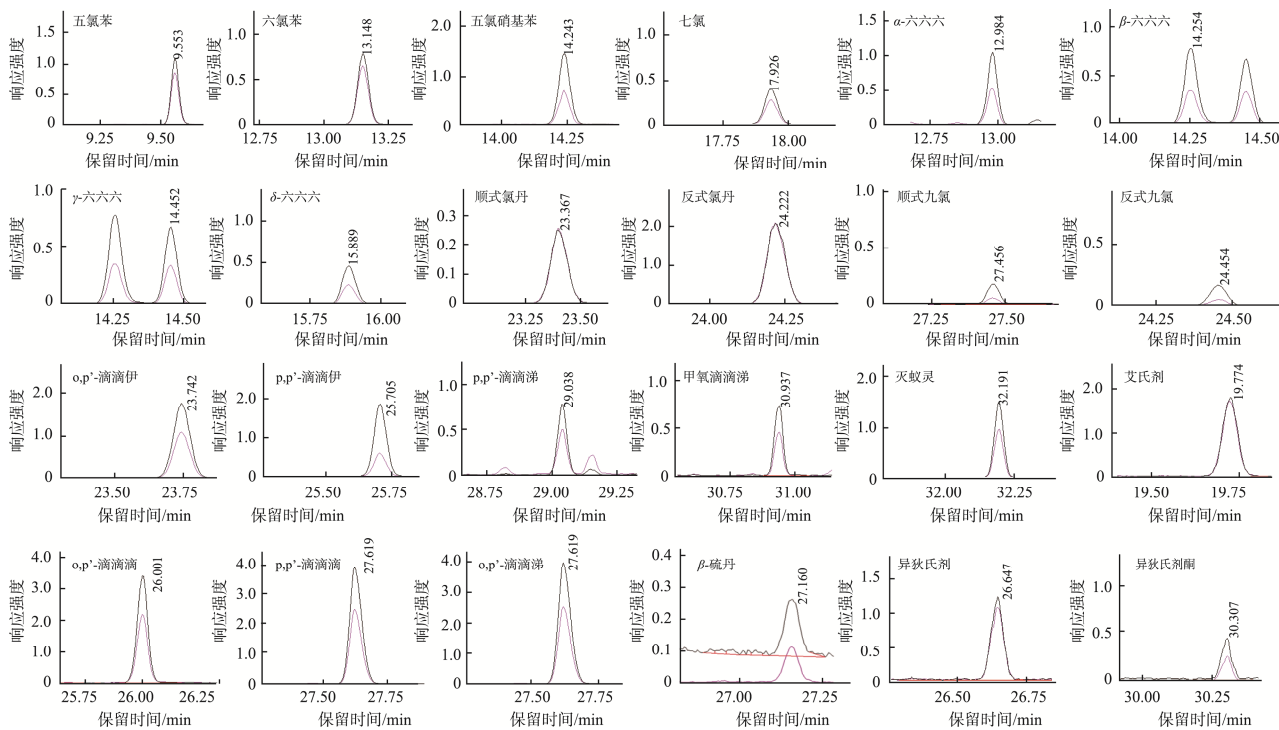


图 2 样品加标溶液总离子色谱图(10  $\mu\text{g}/\text{kg}$ )

Fig.2 Total ion chromatograms of sample spiked solutions (10  $\mu\text{g}/\text{kg}$ )

## 2.2 提取条件的优化

液液萃取是利用化合物在两种液体间的分配系数差异来实现目标物和基体的分离,采用该方法进行样品提取时需要着重考虑有机氯农药在萃取溶剂中溶解度的相对大小。对于牛奶、茶水等液体食品中的有机氯类物质,现有文献常采用酸化乙腈<sup>[24-25]</sup>、酸化甲醇<sup>[26]</sup>、正己烷与极性较大有机溶剂的混合溶液<sup>[27-28]</sup>作为提取剂;而对于脂肪含量更高的母乳,则多使用丙酮<sup>[29]</sup>、二氯甲烷<sup>[30]</sup>等更低极性的有机溶剂与正己烷混合提取,以更充分地萃取样中的 OCPs 于有机层中。本研究在参考前期文献<sup>[29-30]</sup>基础上,通过基质加标实验比较了正己烷-丙酮(3:1, V:V)、二氯甲烷-正己烷(1:1, V:V)和乙酸乙酯-环己烷(3:1, V:V) 3 种混合提取溶剂对目标化合物的提取效率差异。研究数据表明(见图 3),正己烷-丙酮(3:1, V:V)对于母乳样品中 24 种目标化合物的提取效率总体上较后两者更优,各化合物回收率在 88%~118%之间,满足实际检测要求。因此,本研究最终选择了正己烷-丙酮(3:1, V:V)作为提取试剂。

## 2.3 净化条件的优化

母乳样品中主要的基质干扰物为蛋白质和脂肪,蛋白质在有机溶剂提取中因变性沉淀而被去除,而大量脂肪则与有机氯农药一同被萃取出来,因此在样品上机前需要净化除脂以降低基质干扰、提高方法准确性和灵敏度。现有文献中常用的除脂方法有冷冻除脂、固相萃取法、凝胶渗透色谱法、分散固相萃取法等。本研究综合考虑了上述各种方法的操作便捷性、对仪器设备的需求以及除脂效果,最后采用冷冻除脂联合分散固相萃取的方式对母乳提取液进行净化。研究中发现,母乳提取液在-20℃下冷冻 1 h 后,

样品中的高熔点脂肪会从液体中析出,并以固态的形式残留在水层之上,有机层以下,采用吸取上清液的方式可将此部分脂肪与提取液有效分离。而提取液中残留的其他脂肪则采用分散固相萃取法进一步净化。本研究通过基质加标实验,以相对回收率为考察指标,对 C<sub>18</sub> 和 PSA 两种文献中常见的分散固相萃取吸附剂<sup>[31-32]</sup>对目标化合物的提取效率进行了考察,并对净化剂的用量进行了优化。从图 4 中的研究结果可以看出,相比 C<sub>18</sub>, PSA 对样品对目标化合物的吸附更少,大部分化合物有更高的回收率。因此,选择 PSA 作为净化吸附剂。在此基础上,进一步对吸附剂的用量进行了优化,比较了 150、200、250、300 mg PSA 用量下的样品净化效果。研究数据显示(图 5),200 mg PSA 能够有效去除样品中的杂质,获得 80%~120%范围内目标物最高回收率,故最终选择 200 mg PSA 用量。

## 2.4 方法验证

### 2.4.1 方法的线性、检出限及定量限

选取胎牛血清作为基质空白,通过加标建立基质标准曲线,得到的线性方程平衡了部分基质效应,定量更加准确。

在离心管内分别加入 1 mL 胎牛血清、50 μL 内标溶液,及 1.3 配制的标准系列外标溶液 50 μL,同样品一起进行萃取、净化、氮吹及复溶,获得 0~20 μg/kg 的标准曲线。在 1.4.3 仪器条件下进样,分别测定各目标化合物的峰面积,以化合物定量离子的色谱峰峰面积与对应内标色谱峰面积的比值为纵坐标(Y),对应浓度为横坐标(X, μg/kg),绘制标准曲线,得到标准曲线回归方程(表 2),结果表明,24 种 OCPs 线性关系良好,相关系数( $r^2$ )均大于等于 0.99;方法检出限为 0.002~0.500 μg/kg,定量限为 0.006~1.500 μg/kg。

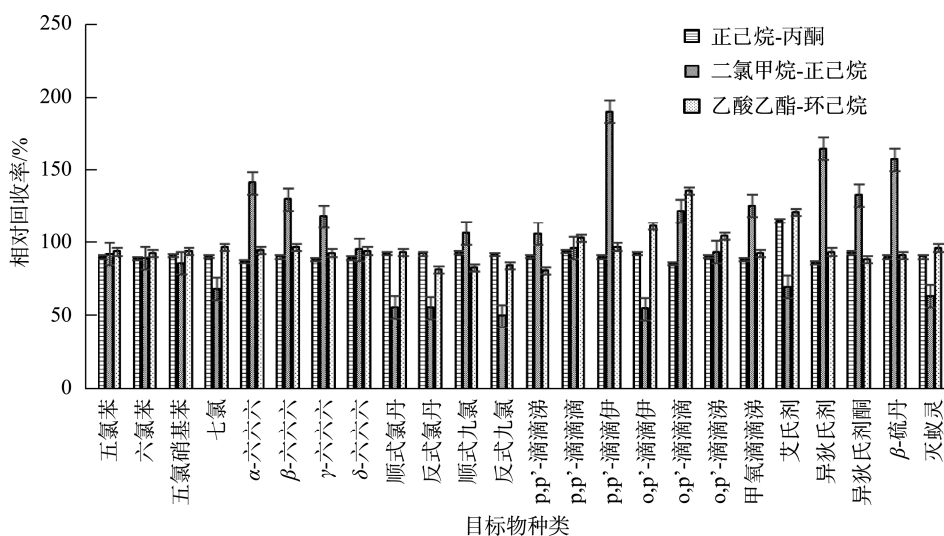


图3 不同提取溶剂对目标化合物提取效率的比较( $n=3$ , 10 μg/kg)

Fig.3 Comparison of extraction efficiencies of the target compounds with different extraction solvents ( $n=3$ , 10 μg/kg)

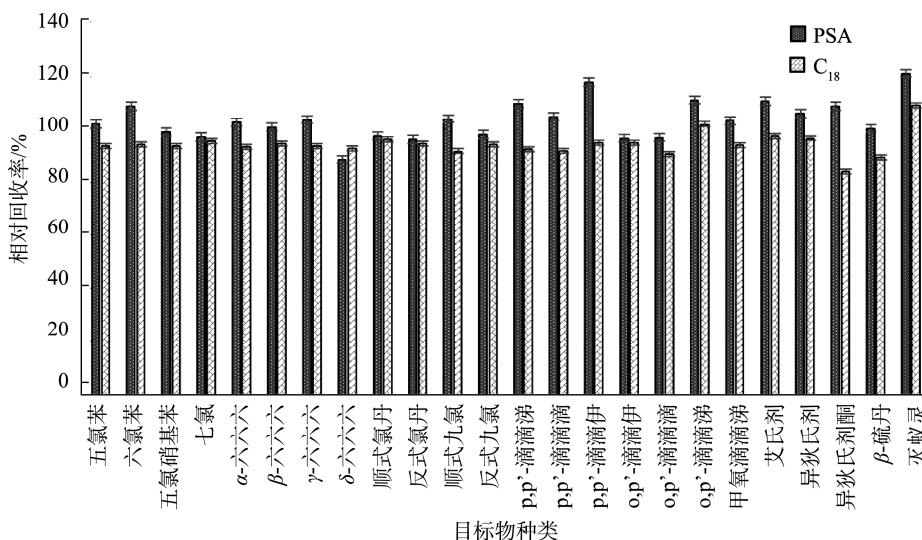


图 4 不同净化剂种类对目标化合物提取效率对比(n=3, 10 μg/kg)

Fig.4 Comparison of extraction efficiencies of target compounds by different types of purifiers (n=3, 10 μg/kg)

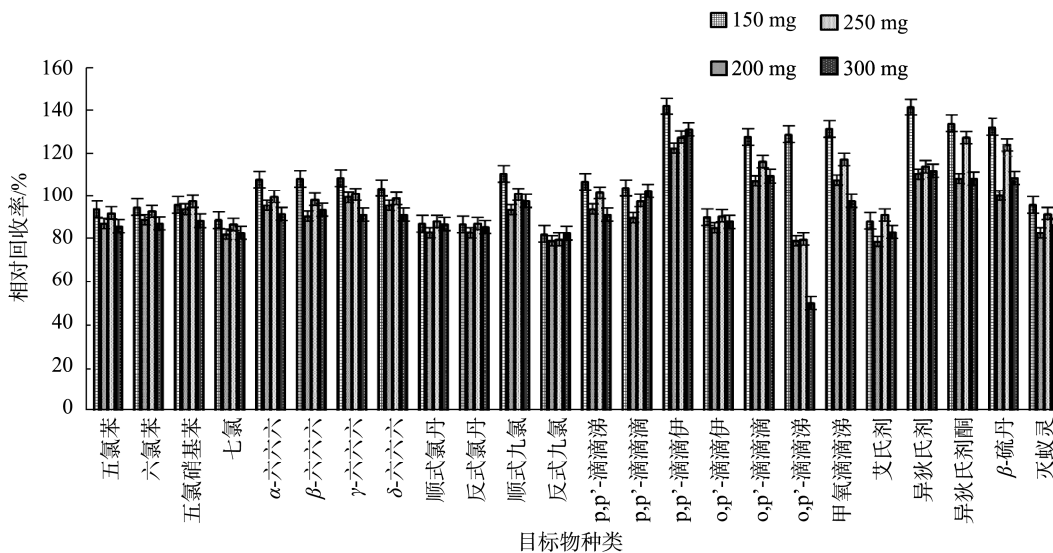


图 5 PSA 用量对目标化合物提取效率对比(n=3, 10 μg/kg)

Fig.5 Comparison of extraction efficiencies of target compounds with PSA dosages (n=3, 10 μg/kg)

表 2 24 种 OCPs 线性方程、相关系数及检出限、定量限

Table 2 Linear equations, correlation coefficients and limits of detection and limits of quantitation of 24 kinds of OCPs

序号	目标物	线性方程	r <sup>2</sup>	检出限/(μg/kg)	定量限/(μg/kg)
1	五氯苯	Y=0.1783X+0.0547	0.993	0.002	0.006
2	六氯苯	Y=0.1744X+0.0517	0.991	0.002	0.006
3	五氯硝基苯	Y=0.033X+0.0063	0.992	0.100	0.300
4	七氯	Y=0.1015X+0.0108	0.991	0.002	0.006
5	α-六六六	Y=0.211X+0.0389	0.991	0.002	0.006
6	β-六六六	Y=0.201X+0.0406	0.990	0.002	0.006
7	γ-六六六	Y=0.1593X+0.0316	0.991	0.002	0.006
8	δ-六六六	Y=0.1188X+0.0097	0.991	0.002	0.006
9	顺式氯丹	Y=0.1308X+0.0025	0.999	0.020	0.060
10	反式氯丹	Y=0.1134X+0.0167	0.992	0.010	0.030
11	顺式九氯	Y=0.0728X+0.0019	0.999	0.020	0.060
12	反式九氯	Y=0.0841X+0.012	0.992	0.005	0.015
13	p,p'-滴滴涕	Y=0.4535X+0.8118	0.996	0.002	0.006

表2(续)

序号	目标物	线性方程	$r^2$	检出限/( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	定量限/( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )
14	p,p'-滴滴涕	$Y=0.8268X+0.1315$	0.993	0.005	0.015
15	p,p'-滴滴伊	$Y=0.7563X+0.1375$	0.991	0.002	0.006
16	o,p'-滴滴伊	$Y=0.9326X+0.1717$	0.991	0.002	0.006
17	o,p'-滴滴滴	$Y=1.476X+0.1127$	0.999	0.002	0.006
18	o,p'-滴滴涕	$Y=0.827X+0.1308$	0.992	0.005	0.015
19	甲氧滴滴涕	$Y=0.4286X+0.0829$	0.995	0.020	0.060
20	艾氏剂	$Y=0.0919X+0.0258$	0.994	0.100	0.300
21	异狄氏剂	$Y=0.0486X+0.0604$	0.993	0.500	1.500
22	异狄氏剂酮	$Y=0.0684X+0.0337$	0.996	0.200	0.600
23	$\beta$ -硫丹	$Y=0.0534X+0.0163$	0.995	0.200	0.600
24	灭蚊灵	$Y=0.1697X+0.0035$	0.994	0.002	0.006

## 2.4.2 回收率、精密度和基质效应

对空白母乳样品进行 1、5、10  $\mu\text{g}/\text{kg}$  3 个浓度的添加回收率实验以及精密度实验,按照 1.4.3 仪器条件测定,每个浓度水平平行实验 6 次,每个浓度水平基质匹配平行实验 3 次。计算加标回收率和相对标准偏差及基质效应。

基质效应通过公式:  $\text{ME}/\%=(A_1/A_2)\times 100\%$  进行计算,其中,  $A_1$  为基质匹配样品中目标物的峰面积,  $A_2$  为溶剂标准样品中目标物的峰面积。当  $\text{ME}>1$  时,表明基质导致目标物

的响应加强;  $\text{ME}<1$  时,表明基质导致目标物的响应抑制。

24 种 OCPs 的平均回收率为 87.1%~129.0%, 相对标准偏差(relative standard deviations, RSDs)为 1.9%~13.9%, 基质效应为 45.7%~183.4%, 见表 2、3。其中,所有目标物的回收率良好,在 87.0%到 129.0%范围内。大部分目标物的基质效应在 80%~130%范围内,仅甲氧滴滴涕、异狄氏剂酮两种目标物呈现明显的响应抑制。整体满足同时测定 24 种有机氯农药的需求,如表 3。

表3 3种不同加标浓度中24种OCPs的回收率、RSDs和基质效应(n=6)

Table 3 Recoveries, RSDs and matrix effects of 24 kinds of OCPs in 3 kinds of different spiked concentrations (n=6)

序号	农药	1 $\mu\text{g}/\text{kg}$			5 $\mu\text{g}/\text{kg}$			10 $\mu\text{g}/\text{kg}$		
		回收率/%	RSDs/%	基质效应/%	回收率/%	RSDs/%	基质效应/%	回收率/%	RSDs/%	基质效应/%
1	五氯苯	119.0	5.4	96.4	106.7	3.8	83.1	102.8	1.9	87.7
2	六氯苯	125.6	5.9	171.8	108.7	3.9	96.8	103.1	3.3	100.5
3	五氯硝基苯	106.7	8.8	125.2	103.6	4.3	108.2	95.3	3.9	130.1
4	七氯	106.1	10.2	135.3	100.6	4.9	112.7	98.1	3.9	140.5
5	$\alpha$ -六六六	104.0	7.5	103.7	98.6	3.2	89.3	101.2	2.5	98.4
6	$\beta$ -六六六	114.5	6.6	183.4	103.3	3.8	119.2	101.7	2.6	110.7
7	$\gamma$ -六六六	99.9	7.2	110.9	96.0	3.5	95.0	99.7	2.5	106.2
8	$\delta$ -六六六	98.3	9.3	113.6	93.9	4.7	98.0	98.9	3.1	112.1
9	顺式氯丹	110.0	7.9	117.1	89.2	4.6	87.7	102.5	2.3	106.2
10	反式氯丹	113.9	7.4	111.5	92.2	5.1	85.9	102.6	3.0	104.5
11	顺式九氯	114.5	11.3	112.0	88.1	5.8	105.2	103.4	3.6	105.6
12	反式九氯	109.9	12.5	119.2	90.1	6.7	89.1	101.2	4.3	107.9
13	p,p'-滴滴涕	128.6	13.9	92.6	104.2	7.9	90.1	101.4	5.9	104.4
14	p,p'-滴滴滴	116.7	8.2	118.6	101.7	4.6	106.2	98.6	3.1	117.4
15	p,p'-滴滴伊	93.4	8.3	160.0	116.8	4.1	101.1	109.6	3.6	156.5
16	o,p'-滴滴伊	120.4	7.6	104.7	104.8	4.7	81.2	103.4	3.1	100.3
17	o,p'-滴滴滴	112.1	5.5	92.0	88.1	4.1	90.7	103.3	2.6	89.4
18	o,p'-滴滴涕	116.4	8.7	119.1	101.9	4.9	105.4	98.5	3.0	117.8
19	甲氧滴滴涕	105.0	10.7	60.1	87.1	7.8	64.9	98.2	7.4	75.0
20	艾氏剂	115.4	8.5	93.5	103.5	5.8	86.9	99.3	3.9	99.3
21	异狄氏剂	100.9	9.5	128.1	89.0	6.9	116.7	101.4	3.4	128.1
22	异狄氏剂酮	129.0	7.9	45.7	98.4	6.4	59.6	105.8	2.5	50.0
23	$\beta$ -硫丹	91.1	12.9	66.4	104.7	2.3	89.8	104.0	6.1	100.5
24	灭蚊灵	116.9	10.1	109.5	100.6	6.4	105.1	100.4	3.3	110.1

## 2.5 实际样品的测定

应用本方法对 14 份母乳样品中的 OCPs 含量进行了检测。检测结果显示(表 4), 六氯苯等 13 种农药在母乳样品中有不同程度检出, 11 种农药在母乳中未检出。 $\beta$ -六六六及  $\beta$ -硫丹在 14 份样品中的检出率最高, 达到 100%, 平均浓度分别为 3.26 和 3.22  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ; 其次为六氯苯, 检出率达到 93%, 平均浓度为 6.04  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。已有研究显示, 六氯苯与  $\beta$ -硫丹在北京地区土壤样品中有较高的检出率<sup>[31-32]</sup>。同时, 我国多地区环境中均有六氯苯、硫丹、六六六等农药的高检出<sup>[33-35]</sup>。本研究母乳中有机氯农药的检出情况与我国环境样品中有机氯农药的检出情况基本类似。

表 4 14 份样品中 13 种检出目标物情况( $n=14$ )  
Table 4 Detection of 13 kinds of target substances in 14 samples ( $n=14$ )

序号	目标物	检出率/%	平均浓度 ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )
1	六氯苯	93	6.04
2	$\alpha$ -六六六	7	0.23
3	$\beta$ -六六六	100	3.26
4	$\gamma$ -六六六	7	0.07
5	$\delta$ -六六六	36	0.02
6	p,p'-滴滴涕	29	0.12
7	o,p'-滴滴涕	7	0.03
8	o,p'-滴滴涕	29	0.12
9	甲氧滴滴涕	7	0.02
10	异狄氏剂	43	0.93
11	异狄氏剂酮	29	0.60
12	$\beta$ -硫丹	100	3.22
13	灭蚁灵	79	0.03

## 3 结论

本研究综合应用液液萃取、冷冻除脂、PSA 分散固相萃取和 GC-MS/MS 等技术, 建立了母乳中 24 种有机氯类农药残留的检测方法。实验数据表明, 冷冻除脂结合 PSA 净化方式可以有效降低母乳中脂肪等干扰物对检测的影响, 同时保持对目标有机氯农药较好的提取回收。该方法净化效果较好、操作简便、灵敏度和准确度较高, 能满足母乳样品中痕量有机氯农药快速检测的需求, 可应用于母乳中 OCPs 含量的检测, 并为母乳及婴儿的 OCPs 含量监测提供方法学参考。

### 参考文献

- [1] 张丽. 农产品中有机氯农药残留超标危害与检测技术[J]. 食品安全导刊, 2020, (30): 149.  
ZHANG L. Harm and detection technology of excessive organic chlorine pesticide residue in agricultural products [J]. Chin Food Saf Magaz, 2020, (30): 149.
- [2] 杨玲, 樊仙, 李复琴, 等. 气相色谱法测定果蔗中有机氯农药残留[J]. 中国糖料, 2020, 42(4): 57-61.  
YANG L, FAN X, LI FQ, et al. Determination of organochlorine pesticide residues in chewing cane by gas chromatography [J]. Sugar Crops Chin, 2020, 42(4): 57-61.

- [3] 王万成, 诸锴. 气相色谱法测定蔬菜中 5 种有机氯农药残留[J]. 现代农业科技, 2017, (15): 99-100.  
WANG WC, ZHU K. Determination of five organochlorine pesticide residue in vegetables by gas chromatography [J]. Mod Agric Sci Technol, 2017, (15): 99-100.
- [4] 罗哲. 湖泊中典型持久性有毒污染物分布与来源及生态风险评价[D]. 长沙: 湖南大学, 2021.  
LUO Z. Study on the distribution and source and ecological risk of typical persistent toxic pollutants in lakes [D]. Changsha: Hunan University, 2021.
- [5] 刘昂. 极地多环芳烃和有机氯污染物分布特征、源解析及风险评价[D]. 青岛: 青岛科技大学, 2021.  
LIU ANG. Distribution characteristics, source analysis and risk assessment of PAHs and OCPs in polar regions [D]. Qingdao: Qingdao University of Science and Technology, 2021.
- [6] 张连辉. “对子孙后代的生存负责”——中国禁用有机氯农药六六六和滴滴涕的曲折历程[J]. 当代中国史研究, 2020, 27(5): 101-114, 159.  
ZHANG LH. “Responsible for the Survival of Future Generations”——China’s tortuous course of banning organochlorine pesticides of 666 and DDT [J]. Contemp Chin Hist Stud, 2020, 27(5): 101-114, 159.
- [7] 陈燕, 任晓鸣, 邱阳, 等. 太湖生态保护引领区水体有机氯农药分布特征及生态风险评价[J]. 环境污染与防治, 2021, 43(7): 886-892.  
CHEN Y, REN XOU, QIU Y, et al. Distribution and risk assessment of organochlorine pesticide in waters of ecological protection leading area in Taihu Lake [J]. Environ Pollut Control, 2021, 43(7): 886-892.
- [8] 开晓莉. 清水河重金属与有机氯农药的环境行为及健康风险研究[D]. 银川: 宁夏大学, 2021.  
KAI XL. Study on environmental behavior and health risk of heavy metals and organochlorine pesticides in Qingshui River [D]. Yinchuan: Ningxia University, 2021.
- [9] MUNGAI TERESIAHMUCIKU. 肯尼亚郊区土壤中重金属和有机氯农药的浓度、分布及健康意义[D]. 武汉: 中国科学院大学(中国科学院武汉植物园), 2020.  
MUNGAI T. Concentration, distribution and health implication of heavy metals and organochlorine pesticides in suburban soils from Kenya [D]. Wuhan: University of Chinese Academy of Sciences (Wuhan Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences), 2020.
- [10] 王静. 有机氯农药残留的危害及改善措施[J]. 湖南农业, 2020, (8): 36.  
WANG J. Harm of organochlorine pesticide residues and improvement measures [J]. Hunan Agric, 2020, (8): 36.
- [11] 王琦. 有机磷、有机氯农药分析方法及甲状腺内分泌干扰效应的研究[D]. 昆明: 昆明理工大学, 2016.  
WANG Q. Study on analytical methods and thyroid endocrine disrupting effects of organophosphorus and organochlorine pesticides [D]. Kunming: Kunming University of Science and Technology, 2016.
- [12] GLOVER F, EISENBERG ML, BELLADDELLI F, et al. The association between organophosphate insecticides and blood pressure dysregulation: NHANES 2013-2014 [J]. Environ Health, 2022, 21(1): 74.
- [13] REBOUILLAT P, VIDAL R, CRAVEDI JP, et al. Prospective association between dietary pesticide exposure profiles and type 2 diabetes risk in the NutriNet-Santé cohort [J]. Environ Health, 2022, 21(1): 57.
- [14] MEDEHOUEYOU TCM, AYOTTE P, CARMICHAEL PH, et al. Exposure to polychlorinated biphenyls and organochlorine pesticides and risk of dementia, Alzheimer’s disease and cognitive decline in an older population: A prospective analysis from the Canadian Study of Health and Aging [J]. Environ Health, 2019. DOI: 10.1186/s12940-019-0494-2
- [15] VERMEIR G, COVACI A, LAREBEKE NV, et al. Neurobehavioural and cognitive effects of prenatal exposure to organochlorine compounds in three year old children [J]. BMC Pediatr, 2021. DOI: 10.1186/s12887-021-02533-2
- [16] COSTET N, LAFONTAINE A, ROUGET F, et al. Prenatal and childhood



- exposure to chlordecone and adiposity of seven-year-old children in the Timoun mother-child cohort study in Guadeloupe (French West Indies) [J]. *Environ Health*, 2022, 21(1): 1–13.
- [17] 杨涛, 刘长勇, 唐宗贵, 等. 蔬菜中8种有机氯及菊酯类农药残留检测方法[J]. *食品工业*, 2022, 43(6): 145–148.  
YANG T, LIU CY, TANG ZG, *et al.* The Determination method of eight organochlorine and pyrethroid pesticide residues in vegetables [J]. *Food Ind*, 2022, 43(6): 145–148.
- [18] 陈秀娜. 采用岛津 GCMS-QP2020NX 测定土壤中有有机氯农药[J]. *绿色科技*, 2022, 24(10): 138–140.  
CHEN XN. Determination of organochlorine pesticides in soil using Shimadzu GCMS-QP2020NX [J]. *J Green Sci Technol*, 2022, 24(10): 138–140.
- [19] 常利民, 张洋, 汪春明, 等. 鸡蛋、鸡肉及奶粉中22种有机氯农药残留的测定[J]. *食品与生物技术学报*, 2022, 41(5): 98–105.  
CHANG LM, ZHANG Y, WANG CM, *et al.* Determination of 22 organochlorine pesticides in egg, chicken and milk powder [J]. *J Food Sci Biotechnol*, 2022, 41(5): 98–105.
- [20] 李燕. 食品中有有机氯农药残留检测的研究进展[J]. *食品安全导刊*, 2020, (23): 34–35.  
LI Y. Research progress on detection of organochlorine pesticide residues in food [J]. *Chin Food Saf Magaz*, 2020, (23): 34–35.
- [21] 宋鑫, 杭学宇, 茅力. 环境和生物样品中有有机氯农药残留检测研究进展[J]. *理化检验(化学分册)*, 2016, 52(2): 238–243.  
SONG X, HANG XY, MAO L. Recent advance on researches of determination of residual amounts of organochlorine pesticides in environmental and biological samples [J]. *Phys Test Chem Anal Part B*, 2016, 52(2): 238–243.
- [22] 倪蓉. 母乳中持久性有机氯农药及代谢物残留的分析方法研究及应用[D]. 上海: 复旦大学, 2012.  
NI R. Study and application of analytical method for persistent organochlorine pesticide and metabolite residues in breast milk [D]. Shanghai: Fudan University, 2012.
- [23] 邝丽红. 金华市产妇产乳中污染物残留及健康风险评估[D]. 金华: 浙江师范大学, 2021.  
KUANG LH. Monitoring of pollutants in breast milk in Jinhua City and assessment if maternal and infant health risks [D]. Jinhua: Zhejiang Normal University, 2021.
- [24] 朱捷, 杨欣, 封锦芳, 等. 牛奶中有机氯农药及拟除虫菊酯农药多残留的HS-SPME-GC-MS分析方法研究[J]. *中国食品卫生杂志*, 2007, (4): 289–293.  
ZHU J, YANG X, FENG JF, *et al.* Headspace solid-phase microextraction combined with gas chromatography mass spectrometry for determination of organochlorine and pyrethroid pesticides in milk [J]. *Chin J Food Hyg*, 2007, (4): 289–293.
- [25] MEHTA RV, SREENIVASA MA, MATHEW M, *et al.* A mixed-methods study of pesticide exposures in Breastmilk and Community & Lactating Women's perspectives from Haryana, India [J]. *BMC Public Health*, 2020, 20(1): 1877.
- [26] 徐骞, 卢大胜, 邱敬磊, 等. 超临界色谱串联静电场轨道阱质谱法测定蔬菜水果中高极性农药残留[J]. *中国食品卫生杂志*, 2022, 34(2): 254–261.  
XU Q, LU DS, QIU XL, *et al.* Determination of polar pesticide residues in vegetable and fruit by supercritical fluid chromatography-Q-Orbitrap [J]. *Chin J Food Hyg*, 2022, 34(2): 254–261.
- [27] 黄晓梅, 马盛韬, 崔君涛, 等. 母乳中多种含卤持久性有机污染物的联合检测方法[J]. *分析化学*, 2017, 45(4): 593–600.  
HUANG XM, MA ST, CUI JT, *et al.* Simultaneous determination of multiple persistent halogenated compounds in human breast milk [J]. *Chin J Anal Chem*, 2017, 45(4): 593–600.
- [28] 朱盼, 万欢, 吕芬, 等. 气相色谱-负化学源-质谱法测定乌龙茶中拟除虫菊酯和有机氯农药多残留[J]. *中国食品卫生杂志*, 2021, 33(4): 415–422.  
ZHU P, WAN H, LV F, *et al.* Determination of pyrethroids and organochlorine pesticides in oolong tea by gas chromatography-negative chemical ionization-mass spectrometry [J]. *Chin J Food Hyg*, 2021, 33(4): 415–422.
- [29] 宋淑玲. 生物介质母乳中典型卤代有机污染物高效分析技术及其应用研究[D]. 北京: 中国地质科学院, 2018.  
SONG SL. Studies on the high performance analysis technology and application for halogenated organic pollutants in breast milk [D]. Beijing: Chinese Academy of Geological Sciences, 2018.
- [30] 周静. 上海地区合成麝香和有机氯农药的母婴暴露及人体传递特征研究[D]. 上海: 上海大学, 2013.  
ZHOU J. The exposure and transfer characteristics of synthetic musks and organochlorine pesticides for mother-infant in Shanghai [D]. Shanghai: Shanghai University, 2013.
- [31] 史双昕, 周丽, 邵丁丁, 等. 北京地区土壤中有有机氯农药类 POPs 残留状况研究[J]. *环境科学研究*, 2007, (1): 24–29.  
SHI SX, ZHOU L, SHAO DD, *et al.* Studies on residues of organochlorine pesticides POPs in the soils in Beijing area [J]. *Res Environ Sci*, 2007, (1): 24–29.
- [32] 李艳, 顾华, 刘洪禄, 等. 北京东南郊灌区土壤和农作物有机农药污染风险评估[J]. *北京水务*, 2019, (2): 17–22.  
LI Y, GU H, LIU HL, *et al.* Soil and crop organic pesticide pollution risk assessment in the irrigation area of southeastern Beijing [J]. *Beijing Water*, 2019, (2): 17–22.
- [33] 刘鹏宇. 饮用水源水中典型 POPs 有机氯农药的强化去除效能研究[D]. 兰州: 兰州交通大学, 2021.  
LIU PY. Study on enhanced removal efficiency of typical POPs organochlorine pesticides in drinking source water [D]. Lanzhou: Lanzhou Jiaotong University, 2021.
- [34] 余悦, 邢新丽, 程毓, 等. 桂林会仙岩溶湿地水体与沉积物中有机氯农药污染特征[J/OL]. *环境科学*: 1–13. [2022-08-30]. DOI: 10.13227/j.hjcx.202204304  
YU Y, XIN XL, CHENG C, *et al.* Characteristics of organochlorine pesticide pollution in water bodies and sediments of Huixian karst wetland in Guilin [J/OL]. *Environ Sci*: 1–13. [2022-08-30]. DOI: 10.13227/j.hjcx.202204304
- [35] 严朝朝, 魏文婉, 伍佳慧, 等. 基质固相分散萃取-气相色谱法测定土壤中有有机氯农药含量[J]. *化工环保*, 2021, 41(2): 235–240.  
YAN ZZ, WEI WW, WU JH, *et al.* Matrix solid phase dispersible extraction-gas chromatography to determine the content of organochlorine pesticides in soil [J]. *Environ Prot Chem Ind*, 2021, 41(2): 235–240.

(责任编辑: 张晓寒 郑 丽)

## 作者简介



吴静薇, 主要研究方向为食品污染物检测技术研究。

E-mail: 2738668522@qq.com



尹杰, 副研究员, 主要研究方向为食品污染物检测技术研究。

E-mail: arnold\_jay@163.com