

非靶向快速筛查茶饮料中未知农药残留

伍颖仪^{1,2}, 陈中^{1,*}, 张思群³, 张弘⁴

(1. 华南理工大学食品科学与工程学院, 广东广州 510640;

2. 合生元(广州)健康产品有限公司, 广东广州 510663;

3. 广东出入境检验检疫局检验检疫技术中心, 广东广州 510623;

4. 亨氏(中国)投资有限公司, 广东广州 510900)

摘要: 本文建立了分散液液微萃取-高效液相色谱-四极杆-飞行时间质谱法(DLLME/HPLC-Q-TOF/MS)非靶向快速筛查茶饮料中未知农药残留的方法。根据目标化合物特征离子的精确质量数、同位素匹配、二级碎片信息进行数据库匹配, 筛查可疑未知农药。依据13种农药为质控化合物优化了测定方法。结果表明, 2 g N-丙基乙二胺为预净化剂, 甲醇为分散剂, 200 μ L 三氯甲烷为萃取剂, 通过摇床震荡的方式提取茶饮料中的目标化合物, Xbridge BEH C18 色谱柱分离的方法回收率范围为83.1%~96.8%, RSD 范围在0.88%~4.82%。空白基质校准曲线的线性范围为2~400 μ g/L, 决定系数 R^2 在0.9989以上, 检测限为0.002~0.092 μ g/kg, 定量限为0.006~0.307 μ g/kg。该方法无需标准品即可快速筛查茶饮料中的农药残留, 能够应用于茶饮料样品的实际筛查。该方法快速、准确、分析通量高, 可以为茶饮料中农药残留的快速筛查和质量控制提供重要的方法依据。

关键词: 分散液液微萃取, 高效液相色谱-四极杆/飞行时间质谱, 非靶向, 茶饮料, 农药残留

Non-target Rapid Screening of Unknown Pesticide Residues in Tea Beverage

WU Ying-yi^{1,2}, CHEN Zhong^{1,*}, ZHANG Si-qun³, ZHANG Hong⁴

(1. College of Food Science and Engineering, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China;

2. Biostime (Guangzhou) Health Product Co., Ltd., Guangzhou 510663, China;

3. Inspection and Quarantine Technology Center of Guangdong Entry-Exit

Inspection and Quarantine Bureau, Guangzhou 510623, China;

4. Heinz (China) Investment Co., Ltd., Guangzhou 510900, China)

Abstract: A dispersive liquid-liquid microextraction (DLLME) coupled with high performance liquid chromatography-quadrupole-time of flight mass spectrometry (HPLC-Q-TOF/MS) method was developed for screening of unknown pesticide residues in tea beverage. 13 kinds of quality-controlled compounds were used as indicator to optimize this method. The target compounds in samples were cleaned by 2 g PSA, extracted by 200 μ L trichloromethane and dispersed by methanol in shaking table and separated on a C18 column, and determined by HPLC-Q-TOF/MS. The average recoveries were between 83.1%~96.8%, and RSD ranged from 0.88%~4.82%. The matrix calibration curves showed good linearity in the range of 2.0~400 μ g/L, the coefficient of determination was above 0.9989, the limits of detection (LOD, S/N = 3) was 0.002~0.092 μ g/kg, and the limits of quantitation (LOQ, S/N = 10) was 0.006~0.307 μ g/kg. This method can quickly screen pesticide residues in tea beverage without reference standards, and can be applied to the actual screening of tea beverage samples. This method is fast, accurate and has high throughput, which can meet the requirement for non-target rapid screening of pesticide residues in tea beverage.

Key words: dispersive liquid-liquid microextraction; high performance liquid chromatography-quadrupole-time of flight mass spectrometry; Non-target; tea beverage; pesticides residues

中图分类号: TS207.3

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2019)15-0188-08

doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2019.15.031

引文格式: 伍颖仪, 陈中, 张思群, 等. 非靶向快速筛查茶饮料中未知农药残留[J]. 食品工业科技, 2019, 40(15): 188-195.

随着社会经济的发展, 人们对食品安全的关注 日益提升, 食品中农药残留作为影响食品安全的重

收稿日期: 2018-10-16

作者简介: 伍颖仪(1988-), 女, 硕士, 研究生, 助理质量工程师, 研究方向: 食品工程, E-mail: tracy_wu5@163.com。

* 通讯作者: 陈中(1968-), 男, 博士, 副教授, 研究方向: 食品科学与工程, E-mail: chzhong@scut.edu.cn。

要因素更是人们关注的重点。目前,农药残留检测的前处理方法有液液萃取法^[1]、QuEChERS法^[2]、固相萃取法^[3]、基质固相分散法^[4]、分散液液微萃取法(DLLME)^[5-6]等。其中分散液液微萃取法是一种新型样品前处理技术。近年来发展迅速,具有操作简便、富集倍数高、快速,尤其是具有有机溶剂用量少等优点,已经逐步在农药残留检测领域应用^[7]。

目前,农药多残留的筛查方法主要有气相色谱-质谱法^[8-9]、气相色谱-串联质谱法^[10-11]、液相色谱-串联质谱法^[12]、气相色谱-四极杆-飞行时间质谱法^[13]和液相色谱-四极杆-飞行时间质谱法等^[14-15]。以单四级杆和串联四级杆等为代表的低分辨质谱由于灵敏度较低等问题应用受到限制,以四极杆飞行时间质谱为代表的高分辨质谱具有出色的一级和二级质谱分析性能、高质量精度和无需标准物质定性等优势,能同时高通量地筛查大量农药,在农药多残留筛查检测方面得到了广泛应用,为农药的科学合理使用提供了有效的监管手段。四极杆-飞行时间质谱可根据化合物的精确质量数、保留时间、同位素强度、同位素分布和二级碎片等质谱信息匹配特定的数据库,实现化合物的无标准品快速筛查,理论上可同时扫描目标物的数量无上限,真正实现高通量分析^[16-18]。四极杆-飞行时间质谱的高分辨率和高质量精度的特点可以有效降低化学噪音,从而提高定性结果的可靠性和定量结果的准确度,尤其适合复杂基质体系中未知化合物的痕量分析^[19]。

目前茶饮料中农药残留筛查以靶向筛查为主,非靶向筛查的方法未见报道。DLLME法作为前处理技术用于农药残留检测的应用已有应用报道。四极杆-飞行时间质谱筛查食品中的农药残留技术也比较成熟。但将二者结合起来对茶饮料中的农药残留进行检测则未见报道。本试验以茶饮料作为研究基质,采用DLLME法前处理技术,采用液相色谱-四极杆-飞行时间质谱法对茶饮料中常用农药进行无标准品非靶向快速定性筛查,并对筛查方法的准确性、稳定性、检测水平等方面进行评估,以期将方法应用到茶饮料样品的实际筛查和检测过程中。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

红茶、绿茶、乌龙茶饮料样品 购自超市;异丙威、克百威、敌敌畏、毒死蜱、马拉硫磷、甲氧菊酯、戊唑醇、丙环唑、啉虫脒、吡虫啉、异丙甲草胺、多杀霉素、百克敏标准品 纯度大于98%,德国Dr.Ehrenstorfer公司,购自上海安谱公司;甲醇、甲酸、乙腈、正丙醇、乙醇、丙酮、异丙醇 HPLC级,美国Thermo Fisher公司;1-溴-3-甲基-丁烷、溴苯、1-溴辛烷、溴环己烷、二氯甲烷、三氯甲烷、中性氧化铝(Al-N)、碱性氧化铝(Al-B)、硅胶键合十八烷基(C18)、氨基基粉(NH2)、石墨化炭黑(GCB)、N-丙基乙二胺(PSA) 分析纯,购自上海安谱公司;实验用水 为Milli-Q超纯水。

TripleTOF™ 5600 + 高分辨质谱仪 美国 AB

SCIEX公司;岛津LC-20AD液相色谱系统 日本岛津公司;Milli-Q Advantage A10超纯水系统 法国Merck Millipore公司;4k-15离心机 德国Sigma公司。

1.2 实验方法

1.2.1 样品前处理 准确称取5 g样品于50 mL聚四氟乙烯塑料离心管中,加入2 g N-丙基乙二胺粉末,涡旋震荡10 min,于10000 r/min离心5 min,转移上清液于15 mL聚四氟乙烯塑料离心管中,加入0.2 mL三氯甲烷、0.1 mL甲醇,摇床震荡5 min,于4000 r/min离心10 min,取下层提取液用乙腈定容至0.2 mL,供HPLC-Q-TOF测定。

1.2.2 仪器条件

1.2.2.1 色谱条件 色谱柱:Xbridge BEH C18色谱柱(100 mm×2.1 mm,3 μm);进样体积:5 μL;流速0.5 mL/min;柱温:40℃;流动相为乙腈(B)-0.1%甲酸(A),梯度洗脱程序如表1。

表1 流动相梯度洗脱程序

Table 1 Gradient elution procedure of mobile phase		
时间(min)	A	B
0	95%	5%
10	10%	90%
13	0%	100%
16	0%	100%
17	95%	5%
20	95%	5%

1.2.2.2 质谱条件 离子源:ESI和APCI复合源;APCI源;连接AB sciex公司自动校正系统(CDS),每10个样品自动校正一次,校正液流速0.40 mL/min;一级TOF-MS扫描准确质量范围:100~1000 Da;数据采集时间:100 ms;二级IDA-MS扫描准确质量范围:50~1000 Da;高灵敏模式;数据采集时间:50 ms;信号阈值:100 cps;IDA实验每循环采集6次数据,动态背景减法扣除。离子模式为ESI⁺,锥孔电压5500 V,离子源温度650℃,去簇电压90 V,碰撞能量为20、35、50 eV叠加,监测模式为TOF-IDA-MS。

1.2.3 方法的优化 方法的优化均以回收率为考察指标,加标含量均为1.0 μg/kg,按照GB/T 27404-2008^[20]规定当加标量小于100 μg/kg时,回收率可接受范围为60%~120%。

1.2.3.1 吸附剂及用量的选择 使用空白的乌龙茶饮料样品加入13种质控农药分别考察6种吸附剂(Al-N、Al-B、C18、NH2、GCB、PSA)对回收率的影响。准确称取5 g样品(n=6)于50 mL聚四氟乙烯塑料离心管中,分别加入2 g上述吸附剂粉末,涡旋震荡10 min,于10000 r/min离心5 min,转移上清液于15 mL聚四氟乙烯塑料离心管中,加入0.2 mL三氯甲烷、0.1 mL甲醇,摇床震荡5 min,于4000 r/min离心10 min,取下层提取液用乙腈定容至0.2 mL,供HPLC-Q-TOF测定。确定最佳吸附剂以后,将其用量设置为0.5、1.0、1.5、2.0、2.5 g,考察吸附剂的使用量对回收率的影响。

1.2.3.2 萃取剂及用量的选择 使用空白的乌龙茶饮料样品加入 13 种质控农药分别考察 6 种萃取剂(1-溴-3-甲基-丁烷、溴苯、1-溴辛烷、溴环己烷、二氯甲烷、三氯甲烷)对回收率的影响。前处理操作除加入的萃取剂不同外,其他操作同 1.2.3.1, HPLC-Q-TOF 测定。确定最佳萃取剂以后,将其用量设置为 50、100、150、200、250、300 μL ,考察萃取剂的使用量对回收率的影响。

1.2.3.3 分散剂的选择 使用空白的乌龙茶饮料样品加入 13 种质控农药分别考察 6 种分散剂(甲醇、乙醇、乙腈、丙酮、正丙醇、异丙醇)对回收率的影响。前处理操作除加入的分散剂不同外,其他操作同 1.2.3.1, HPLC-Q-TOF 测定。

1.2.4 方法学考察 由于液相色谱-串联质谱仪的基质影响很明显,所以本方法采用空白基质配制校正曲线。将 13 种农药的混合标准溶液用空白样品提取液稀释配制成 2.00~400 $\mu\text{g/L}$ 的系列基质标准溶液,在 1.2.2 的分析条件下对其进行测定,以峰面积(y)对浓度(x)做标准曲线。按 10 倍信噪比计算定量限,3 倍信噪比计算检出限。分别向红茶、绿茶和乌龙茶饮料空白样品中添加 13 种农药的混合标准溶液,添加水平分别为 0.5、1.0、5.0 $\mu\text{g/kg}$,然后按照本实验方法进行预净化、提取和检测。每个加标水平重复 6 次测定,并计算回收率和精密度。

1.2.5 筛查方法 高分辨质谱数据在 AB Sciex 公司的 Analyst TF 1.6 软件采集,采用 PeakView2.0 软件对实际样品中的农药残留进行筛查,由农药化合物列表进行检索,在 PeakView2.0 软件中调用已建立的农药化合物列表,设置相应的检索参数:精确质量偏差为 $\pm 1 \times 10^{-5}$,离子化模式设定为 +H 模式。软件会计算化合物的实测值与理论值的偏差,通过分子离子的精确质量偏差、同位素比、二级碎片和保留时间给出相应的检索匹配得分值,对于检索结果综合得分 ≥ 85 的化合物,本方法确认其为检出农药。

2 结果与讨论

2.1 非靶向快速筛查农药残留的质控方法优化

为保证样品前处理过程、整个色谱保留时间和高分辨质量数的精确度和准确度,实现筛查结果的准确性,挑选 13 种农药进行质控实验。选择的农药包括有机磷、氨基甲酸酯、拟除虫菊酯、大环内酯和烟碱类杀虫剂、杀菌剂和除草剂。选择依据是尽量覆盖常见的农药、极性跨度大和出峰时间分散,能够有效监控非靶向筛查过程中整体实验条件的稳定性,确保筛查结果稳定可靠。13 种质控农药分别在 1.2.2 节条件下进行实验,优化分散液液微萃取前处理条件。

2.1.1 吸附剂及用量的选择 由于样品基质的复杂性,本实验在净化样品过程中采取分散固相萃取与分散液液微萃取技术相结合的方法,以实现复杂基质样品中被分析物的分析。茶饮料中存在基质干扰,所以利用分散固相萃取对被分析物进行预净化。净化过程加入了 PSA 吸附剂用于去除基质中的糖类、极性脂肪酸和极性色素;实验比较了 Al-N、

Al-B、C18、NH₂、GCB、PSA 对乌龙茶饮料的净化效果。结果如图 1 所示,考察的几种吸附剂中,Al-N 和 Al-B 对敌敌畏吸附力强,C18 会吸附戊唑醇,GCB 对百克敏和多杀霉素有吸附作用,NH₂ 对甲氰菊酯的基质效应增加太明显,只有 PSA 的净化效果最好,且不吸附目标物。对 PSA 的用量进行考察,结果见图 2,当 PSA 用量为 0.5~2 g 范围时,回收率逐渐增大,当 PSA 用量大于 2 g 时,回收率基本无变化。本文使用 2 g PSA 净化,各目标物回收率范围在 87.3%~106%。

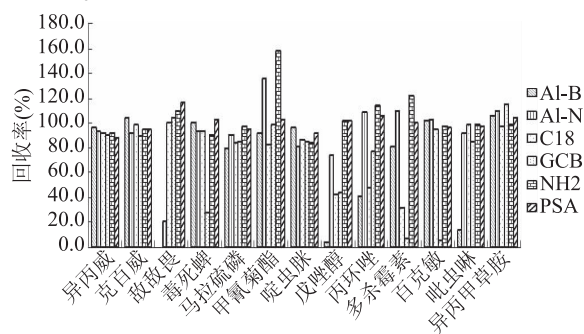


图1 不同吸附剂对 13 种质控农药回收率的影响

Fig.1 Effect of different sorbents on the recoveries of 13 kinds of quality-controlled pesticides

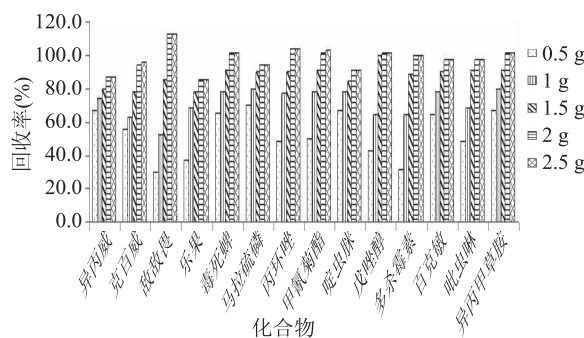


图2 PSA 用量对 13 种质控农药回收率的影响

Fig.2 Effect of usage of PSA on the recoveries of 13 kinds of quality-controlled pesticides

2.1.2 萃取剂及用量的选择 萃取剂是影响萃取效率的重要因素,应具有较强的疏水作用且对目标物有良好的萃取能力。实验比较了 1-溴-3-甲基-丁烷、溴苯、1-溴辛烷、溴环己烷、二氯甲烷、三氯甲烷 6 种有机溶剂的萃取效果。考察的 6 种溶剂提取效果见图 3。结果表明,三氯甲烷对所有的农药具有良好的提取效率,其次是二氯甲烷和溴苯。可能是由于三氯甲烷和二氯甲烷的极性较大,根据相似相溶原理,13 种农药属于极性化合物,易溶于极性有机溶剂。使用三氯甲烷作为提取剂的回收率满足要求,所以选择三氯甲烷作为萃取剂做进一步研究。本实验分别用 50、100、150、200、250、300 μL 的三氯甲烷进行萃取,考察了萃取剂体积对萃取回收率的影响。结果如图 4 所示,当萃取剂体积低于 50 μL 时,下层无法回收有机相,可能由于萃取剂量太少,在分散剂的作用下完全溶于样品中。随着三氯甲烷体积增大,回收率也增大,而当三氯甲烷体积大于 200 μL

时,回收率增大已不明显,所以三氯甲烷 200 μL 是最佳萃取体积。

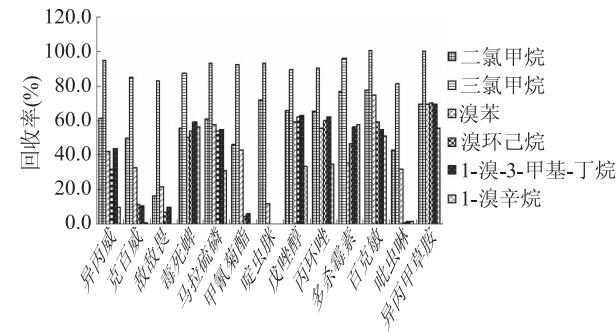


图3 不同萃取剂对 13 种质控农药提取效果的影响
Fig.3 Effect of different extractants on the recoveries of 13 kinds of quality-controlled pesticides

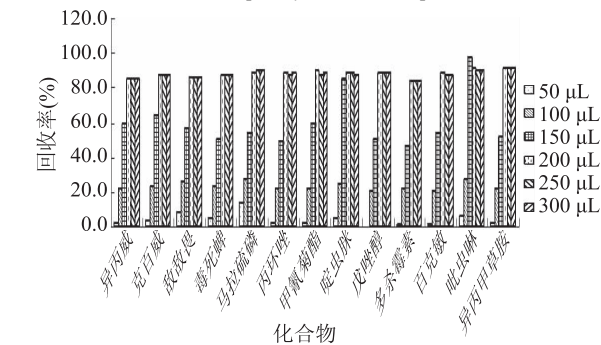


图4 提取剂用量对 13 种质控农药回收率的影响
Fig.4 Effect of usage of extraction solvent on the recoveries of 13 kinds of quality-controlled pesticides

2.1.3 分散剂的选择 分散剂的类型是影响液液微萃取萃取率的关键因素,通常要求分散剂要能同时溶于萃取剂和水,使萃取溶剂在水相中分散成细小的液滴,增大其与待测物的接触面积。这些液滴在分散萃取的过程中对目标物进行连续萃取,促进形成水/分散剂/萃取剂三元乳浊液体系,快速完成分析物在水溶液与萃取剂之间的分配平衡,从而提高萃取效率。因此选择合适的分散剂对提高方法的萃取率十分重要。在本实验中,分别考察了甲醇、乙

醇、乙腈、丙酮、正丙醇、异丙醇作为分散剂对萃取效果的影响。结果见图 5,测定结果表明,甲醇、乙醇和异丙醇作为分散剂时,回收率均在可接受范围内,三种分散剂比较后,甲醇最好。正丙醇作为分散剂时,多杀霉素回收效果不好。乙腈和丙酮作为分散剂时,大部分农药回收率偏低。这是因为偏极性的分散剂更有利于三氯甲烷在样品中分散。因此,本研究选取甲醇为分散剂。

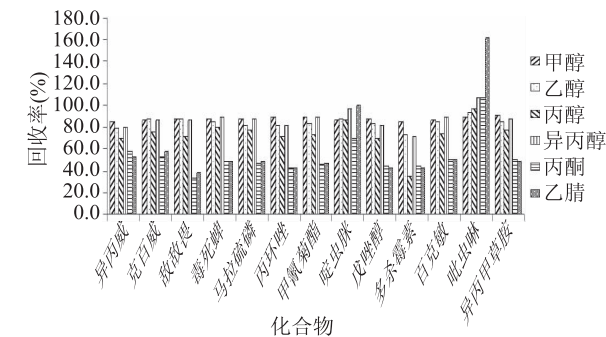


图5 不同分散剂对 13 种质控农药提取效果的影响
Fig.5 Effect of different dispersants on the recoveries of 13 kinds of quality-controlled pesticides

2.1.4 质控农药定性定量依据 本研究选择 13 种农药作为目标分析对照参考物质。首先将 13 个目标化合物进行 HPLC-Q-TOF-MS 分析,获得目标化合物高分辨质谱数据信息;根据一级 TOF-MS 和二级 IDA-MS 质谱信息定性定量分析目标化合物。13 个目标化合物的定性定量分析质谱数据依据见表 2。13 种质控农药的实测质量精度较好,误差均小于 10^{-6} Da。

2.1.5 线性范围与检测限 样品中 13 种农药的含量,根据目标化合物的一级 TOF-MS 高分辨质谱信息进行分析。首先利用 LC-Q-TOF-MS 分析方法获得目标化合物的离子流色谱,13 种目标化合物配制成混合标准溶液,并使用空白基质溶液稀释成一系列质量浓度,获得目标化合物的校正曲线以及线性范围;同时以 3 倍信噪比和 10 倍信噪比依据,确定方法的检测限与定量限。13 种目标化合物的高分辨提

表 2 13 种农药化合物高分辨质谱数据

Table 2 Mass spectrometry parameters data for 13 pesticides

名称	分子式	离子化模式	理论值(m/z)	实测值(m/z)	误差(10^{-6} Da)
异丙威	$\text{C}_{11}\text{H}_{15}\text{NO}_2$	M + H	194.11756	194.11765	0.46
克百威	$\text{C}_{12}\text{H}_{15}\text{NO}_3$	M + H	222.11247	222.11267	0.89
敌敌畏	$\text{C}_4\text{H}_7\text{Cl}_2\text{O}_4\text{P}$	M + H	220.95318	220.95311	-0.31
毒死蜱	$\text{C}_9\text{H}_{11}\text{Cl}_3\text{NO}_3\text{PS}$	M + H	349.93356	349.93367	0.32
马拉硫磷	$\text{C}_{10}\text{H}_{19}\text{O}_6\text{PS}_2$	M + H	331.04335	331.04364	0.88
甲氧菊酯	$\text{C}_{22}\text{H}_{23}\text{NO}_3$	M + H	350.17507	350.17589	2.34
啉虫脒	$\text{C}_{10}\text{H}_{11}\text{ClN}_4$	M + H	223.07450	223.07470	0.88
戊唑醇	$\text{C}_{16}\text{H}_{22}\text{ClN}_3\text{O}$	M + H	308.15242	308.15278	1.19
丙环唑	$\text{C}_{15}\text{H}_{17}\text{Cl}_2\text{N}_3\text{O}_2$	M + H	342.07706	342.07730	0.71
多杀霉素	$\text{C}_{41}\text{H}_{65}\text{NO}_{10}$	M + H	732.46812	732.46895	1.12
百克敏	$\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{ClN}_3\text{O}_4$	M + H	388.10586	388.10641	1.42
吡虫啉	$\text{C}_9\text{H}_{10}\text{ClN}_5\text{O}_2$	M + H	256.05958	256.05979	0.84
异丙甲草胺	$\text{C}_{15}\text{H}_{22}\text{ClNO}_2$	M + H	284.14118	284.14141	0.80

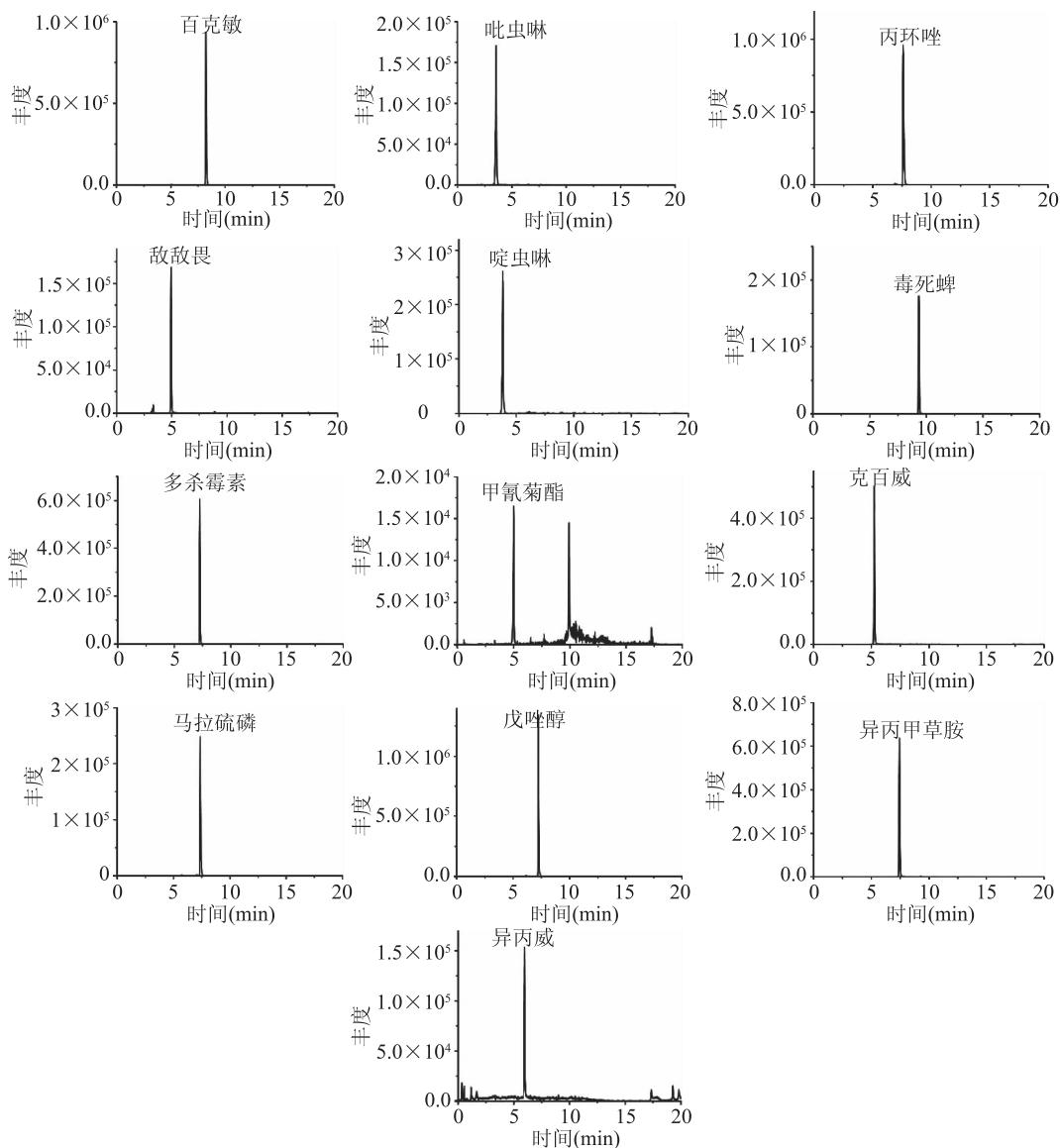


图6 13种质控农药的提取离子流色谱图

Fig.6 Extracted ion chromatogram of 13 kinds of quality-controlled pesticides

表3 13种质控农药的校准曲线、检测限与定量限

Table 3 Calibration curves, LOD and LOQ of 13 kinds of quality-controlled pesticides

名称	校正曲线	R^2	线性范围 ($\mu\text{g/L}$)	检测限 ($\mu\text{g/kg}$)	定量限 ($\mu\text{g/kg}$)
异丙威	$y = 1984.07x + 15400.14$	0.9989	5~400	0.062	0.207
克百威	$y = 7003.25x + 3.89\text{e}4$	0.9990	5~400	0.011	0.035
敌敌畏	$y = 2410.98x + 20715.25$	0.9998	2~200	0.007	0.023
毒死蜱	$y = 2132.14x - 1081.46$	0.9998	2~200	0.006	0.019
马拉硫磷	$y = 3264.17x + 11767.46$	0.9994	5~400	0.008	0.025
甲氧菊酯	$y = 331.072 + 3363.98$	0.9996	5~400	0.092	0.307
啉虫脒	$y = 6935.48x + 5.60\text{e}4$	0.9991	5~400	0.009	0.031
戊唑醇	$y = 12703.75x - 21177.98$	0.9992	2~200	0.003	0.009
丙环唑	$y = 14406.39x - 18062.52$	0.9997	2~200	0.002	0.005
多杀霉素	$y = 5180.36x + 28640.49$	0.9996	2~200	0.003	0.010
百克敏	$y = 16108.72x + 2.24\text{e}5$	0.9995	2~200	0.002	0.006
吡虫啉	$y = 3976.04x + 18991.59$	0.9992	5~400	0.009	0.030
异丙甲草胺	$y = 11597.87x + 8.46\text{e}4$	0.9990	2~200	0.004	0.012

取离子流图见图 6。结果表明,空白基质校准曲线的 R^2 在 0.9989 以上,检测限为 0.002~0.092 $\mu\text{g}/\text{kg}$,定量限为 0.006~0.307 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。相关参数见表 3。由质控农药的定量分析结果可知,本方法检出限低,灵敏度高,可用于非靶向农药残留快速筛查。

2.1.6 质控农药精密度数据 分别对绿茶、红茶和乌龙茶 3 种基质进行添加回收实验。每种基质添加 3 个不同浓度水平标准溶液,按实验方法进行测定,每个浓度水平做 6 份平行样品,回收率和相对标准偏差(RSD,%)结果见表 4。由表 4 可知,3 种不同基质样品的平均回收率范围在 83.1%~96.8%,RSD 范围在 0.88%~4.82%,方法精密度及准确度良好,可用于非靶向农药残留快速筛查。

2.2 非靶向农药残留快速筛查验证

基于 13 种质控农药优化的结果可知,本方法建立的筛查方法稳定性好、灵敏度高,可扩展到有机

磷、氨基甲酸酯、拟除虫菊酯、大环内酯和烟碱类杀虫剂、杀菌剂以及酰胺类和三唑类除草剂同类别的农药的非靶向筛查。为验证本筛查方法的可靠性,在乌龙茶饮料样品中添加 2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 与质控农药同类别的农药(莠去津、醚菌酯、噻虫啉、丁硫克百威、乐果),在未知添加农药品种的情况下,按照 1.2.1 的经前处理后供 HPLC-Q-TOF/MS 测定。将待筛查的所有农药分子式导入 Peak View 2.0 即可构成筛查数据库。采集的一级质谱图包含化合物的精确质量数和同位素比值。使用一级谱图对筛查出的可疑农药进行同位素分布和精确质量数进行匹配分析。如果同位素分布得分大于 90 且精确质量数误差小于 $\pm 1 \times 10^{-5}$,再进行二级碎片信息进行匹配。通过 Chem Draw Ultra 14.0 软件绘制可疑农药的结构式,并将其导入 Peak View 2.0 软件中,将结构与二级碎片进行匹配,结合相应的检索匹配得分值判断目标化合物

表 4 13 种质控农药回收率和相对标准偏差数据(n=6)

Table 4 Recovery rate and relative standard deviation of 13 kinds of quality-controlled pesticides(n=6)

质控农药	添加水平($\mu\text{g}/\text{kg}$)	绿茶	红茶	乌龙茶
		平均回收率(RSD,%)		
异丙威	空白	ND	ND	ND
	0.5	87.4(2.89)	86.4(1.80)	86.2(2.07)
	加标			
克百威	1.0	93.4(2.57)	89.9(2.72)	88.7(2.92)
	5.0	93.6(3.28)	87.6(3.81)	88.4(4.36)
	空白	ND	ND	ND
敌敌畏	0.5	85.2(2.09)	85.4(2.00)	87.8(3.19)
	加标			
	1.0	88.4(2.91)	86.4(2.21)	91.9(2.47)
毒死蜱	5.0	86.0(2.56)	88.4(2.20)	91.8(2.45)
	空白	ND	ND	ND
马拉硫磷	0.5	87.2(2.11)	85.6(1.78)	85.8(2.90)
	加标			
	1.0	91.6(1.86)	88.8(2.25)	86.8(2.89)
甲氰菊酯	5.0	87.8(3.62)	89.2(3.18)	88.8(2.61)
	空白	ND	ND	ND
啉虫脒	0.5	93.2(2.64)	88.2(2.32)	88.6(2.89)
	加标			
	1.0	96.8(2.07)	90.6(2.37)	89.4(2.78)
戊唑醇	5.0	91.7(2.19)	87.2(2.00)	89.6(4.34)
	空白	ND	ND	ND
啉虫脒	0.5	84.4(1.32)	87.6(2.36)	85.4(1.57)
	加标			
	1.0	87.7(3.22)	88.7(2.72)	88.0(2.56)
啉虫脒	5.0	88.2(1.86)	88.2(2.04)	87.4(2.45)
	空白	ND	ND	ND
啉虫脒	0.5	83.2(1.26)	84.2(1.43)	84.2(1.85)
	加标			
	1.0	83.3(0.88)	83.1(0.95)	84.2(1.73)
啉虫脒	5.0	86.2(1.31)	84.4(1.37)	87.2(2.25)
	空白	ND	ND	ND
啉虫脒	0.5	90.0(4.21)	90.4(2.11)	89.8(3.51)
	加标			
	1.0	91.3(1.73)	90.8(2.32)	90.3(3.03)
戊唑醇	5.0	89.2(2.93)	89.6(2.26)	90.2(2.95)
	空白	ND	ND	ND
戊唑醇	0.5	86.4(4.37)	85.0(2.60)	86.0(2.16)
	加标			
	1.0	89.4(3.00)	91.2(1.65)	89.2(2.56)
戊唑醇	5.0	92.4(3.87)	87.2(3.37)	87.0(2.10)

续表

质控农药	添加水平(μg/kg)	平均回收率(RSD, %)		
		绿茶	红茶	乌龙茶
丙环唑	空白	ND	ND	ND
	0.5	90.4(4.82)	89.8(3.44)	90.2(3.69)
	加标			
	1.0	88.0(3.46)	90.3(2.55)	90.9(3.14)
多杀霉素	5.0	90.4(3.58)	87.0(2.33)	93.0(3.08)
	空白	ND	ND	ND
	0.5	91.4(3.50)	91.2(4.13)	88.2(2.24)
	加标			
	1.0	91.9(2.67)	95.2(1.73)	90.3(2.84)
百克敏	5.0	94.2(3.74)	94.2(3.08)	92.8(3.38)
	空白	ND	ND	ND
	0.5	88.4(3.44)	88.2(3.31)	87.6(2.48)
	加标			
	1.0	87.9(1.83)	91.6(1.45)	91.5(1.28)
吡虫啉	5.0	89.8(3.14)	89.8(2.27)	90.6(3.80)
	空白	ND	ND	ND
	0.5	84.4(1.67)	85.8(1.75)	86.6(2.47)
	加标			
	1.0	86.4(1.66)	88.7(2.02)	86.8(1.65)
异丙甲草胺	5.0	89.6(2.27)	88.6(2.21)	92.4(2.34)
	空白	ND	ND	ND
	0.5	95.2(2.97)	87.0(2.14)	86.2(2.44)
	加标			
	1.0	92.0(1.84)	89.4(1.88)	91.6(1.58)
	5.0	95.0(3.10)	92.4(3.82)	91.0(2.93)

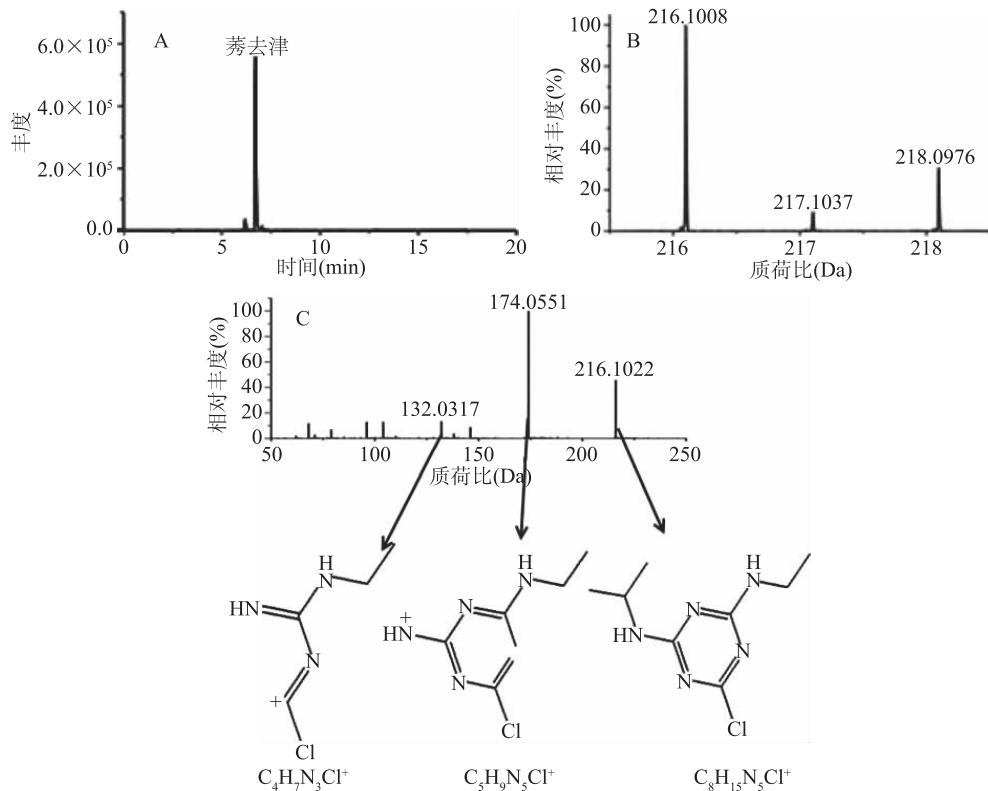


图7 莠去津定性筛查图示

Fig.7 Qualitative screening flow chart of atrazine

注:(A)一级精确质量数比对;(B)一级同位素分布分析;(C)二级碎片与结构分析。

是否检出。以除草剂莠去津筛查为例,建立非靶向定性筛查农药的分析方法时,现将其分子式输入筛查列表中,并定义离子化模式为 $[M+H]^+$,得到的提取离子色谱图见图7(A)。其提取精确质量数误

差小于 1×10^{-5} ,可进一步进行同位素分布分析,见图7(B)。由于可疑目标峰的同位素分布与莠去津相似,可调用其二级质谱图,结合其结构式进行结构与二级精确质量数的匹配,结果见图7(C)。可疑目

标峰的三个主要碎片都和莠去津结构完全匹配上,三个碎片精确质量数误差小于 0.0001 Da。综合匹配分值为 90,可判定为检出莠去津。其它农药的筛查模式与上文一样。在未知添加农药品种的情况下,5 种添加用于验证筛查方法的农药均定性检出,筛查准确率为 100%。依据欧盟标准 2002/657/EC,高分辨定性方法要求只需母离子和 1 个子离子的精确质量数即可。因此,本试验方法所建立茶饮料中的农残非靶向定性筛查技术可满足方法学要求。

3 结论

本实验利用液相色谱-四极杆-飞行时间质谱建立了茶饮料中的农残非靶向筛查方法。通过添加 13 种农药作为质控化合物,优化了分散液液微萃取方法对茶饮料样品的前处理条件。最佳前处理组合为:N-丙基乙二胺为预净化剂,用量为 2 g;三氯甲烷为萃取剂,用量为 200 μL ;分散剂为甲醇。质控化合物的回收率范围为 83.1%~96.8%,RSD 范围在 0.88%~4.82%。空白基质校准曲线的范围为 2~400 $\mu\text{g/L}$,决定系数 R^2 大于 0.9989,检测限为 0.002~0.092 $\mu\text{g/kg}$,定量限为 0.006~0.307 $\mu\text{g/kg}$ 。数据通过软件处理,比对目标化合物母离子的精确质量数、同位素比例等信息,结合二级碎片谱图与结构匹配技术,无需对照标准品即可同时筛查和确认茶饮料中的与 13 种质控化合物性质类似的多种农药残留。本方法的建立可为茶饮料中未知农残快速筛查和质量控制提供技术依据。

参考文献

- [1] 于桂芳,王宪平,胡军华,等.GC-ECD 法测定 5 种保健食品中六六六和滴滴涕的农药残留[J].药学与临床研究,2015,23(5):468-470.
- [2] Anastassiades M, Lehotay S J, Stajnbaherd, et al. Fast and easy multi - residue method employing acetonitrile extraction/partitioning and dispersive solid - phase extraction" for the determination of pesticide residues in produce [J]. Journal of AOAC International, 2003, 86(2): 412-431.
- [3] 林永强,林林,刘广桢,等.QuEChERS-SPE-UHPLC-MS/MS 测定瓜蒌中 156 种农药残留[J].中国现代应用药学,2018,35(1):17-23.
- [4] 刘家曾,宋宁慧,王艺璇,等.基质固相分散-气相色谱/质谱联用技术测定茶叶中 8 种农药残留[J].分析科学学报,2018,34(3):337-341.
- [5] Chen B, Wu F Q, Wu W D, et al. Determination of 27 pesticides in wine by dispersive liquid-liquid micro extraction and gas chromatography-mass spectrometry [J]. Micro chemical Journal, 2016, 126(5): 415-422.
- [6] 崔世勇,樊珠凤,姜丽华.悬浮固相分散液液微萃取-气相色谱-质谱法测定水中 10 种有机磷农药[J].现代预防医学,

2016, 43(11): 2048-2066.

- [7] 李玉博.绿色环保的新型分散液液微萃取技术在农药残留分析中的应用[D].北京:中国农业大学,2015.
- [8] 马妍,陈曦,沈蕊,等.浸入式固相微萃取-气相色谱-质谱法测定中草药液体保健食品中 25 种有机磷农药残留[J].卫生研究,2018,47(3):446-452.
- [9] 张秀丰,翟硕莉,杨亚君,等.改良的 QuEChERS-气相色谱-质谱联用法测定茶叶中多种农药残留[J].分析试验室,2018,37(5):524-528.
- [10] 朱炳祺,金绍强,徐潇颖,等.改进的 QuEChERS 方法结合在线凝胶色谱-气相色谱-串联质谱法测定茶叶中 39 种有机磷农药的含量[J].理化检验(化学分册),2018,54(4):433-442.
- [11] 朱作为,张文中,陈沙,等.气相色谱-三重四极杆串联质谱法测定大米、韭菜、茶叶 3 种基质中 51 种农药残留的研究[J].食品安全质量检测学报,2018,9(6):1297-1307.
- [12] 吴燕梅,邓华阳,杨钦沾,等.优化的 QuEChERS/超高效液相色谱-串联质谱法测定鲜茶叶中 21 种氨基甲酸酯类农药残留[J].化学研究与应用,2018,30(3):437-443.
- [13] 曹新悦,庞国芳,金铃和,等.气相色谱-四极杆-飞行时间质谱和气相色谱-串联质谱对水果、蔬菜中 208 种农药残留筛查确证能力的对比[J].色谱,2015,33(4):389-396.
- [14] 张建莹,罗耀,宫本宁,等.液相色谱-四极杆-飞行时间质谱法快速筛查苹果与生菜中 248 种农药残留[J].分析测试学报,2018,37(2):154-164.
- [15] 张海超,艾连峰,马育松,等.在线净化液相色谱-高分辨质谱法快速筛查果蔬中 212 种农药残留[J].分析测试学报,2018,37(2):180-189.
- [16] 余璐,宋伟,吕亚宁,等.超高效液相色谱-四极杆-飞行时间质谱法快速筛查茶叶中的 204 种农药残留[J].色谱,2015,33(6):597-612.
- [17] 彭兴,赵志远,康健,等.LC-TOF/MS 无标准品定性筛查水果蔬菜中 210 种农药残留[J].分析试验室,2014,33(3):282-291.
- [18] 赵志远,石志红,康健,等.液相色谱-四极杆/飞行时间质谱快速筛查与确证苹果番茄和甘蓝中的 281 种农药残留量[J].色谱,2013,4(3):372-379.
- [19] 李晓娟,彭涛,李重九.色谱-飞行时间质谱联用技术的特点及其在食品污染物分析研究中的应用[J].分析测试学报,2012,31(5):628-632.
- [20] 中国国家标准委员会.GB/T 27404-2008 实验室质量控制规范食品理化检测[S].北京:中国标准出版社,2008.
- [21] European Commission (EC). Commission Decision 2002/657/EC of 12 August 2002 implementing council directive 96/23/EC concerning the performance of analytical methods and the interpretation of result. Official Journal L221, 17 August 2002, 8-36.

权威·核心·领先·实用·全面