

使用两种前处理方法结合高效液相色谱串联质谱法测定咸鱼中 16 种有机磷农药残留

应用简报

食品检测与农业

作者

梁雪琪¹ 黎小鹏² 魏斌^{3*}

1. 中山市农产品质量监督检验所
2. 中山市三乡镇农产品检验检测站
3. 淮安出入境检验检疫局

摘要

本文建立了咸鱼中 16 种有机磷农药残留的液相色谱串联质谱分析方法，线性范围在 0.5 ~ 20 ng/mL 之间，线性相关系数在 0.991 ~ 0.999 之间。此外，还对两种前处理方法进行了考察，分别使用 Agilent Bond Elut QuEChERS 试剂盒以及国标前处理方法对咸鱼进行前处理，QuEChERS 方法回收率在 55.45% ~ 100.37% 之间，国标前处理方法回收率在 46.62% ~ 108.32%。结果表明，QuEChERS 方法具有操作简便快速、准确率高、重复性好等优点。

前言

食品的质量安全近年来在我国引起了高度重视。咸鱼是一种腌制食品，在加工过程中不法商贩为了防治蚊蝇、蛆虫等^[1]滋生会向咸鱼喷洒、浸泡有机磷农药，这严重威胁广大人民的健康。因此，建立准确、快速测定此类食品中有机磷残留的检测方法具有重要意义。

国标^[2]中关于肉制品中有机磷农药的前处理方法繁琐，且除脂和净化效果不理想。而 QuEChERS (Quick、Easy、Cheap、Effective、Rugged、Safe) 方法是近年来国际上最新发展起来的一种用于农产品农药残留检测的快速样品前处理技术，此方法快捷简便，并且能将咸鱼样品中大量油脂去除，减少分析过程中基质干扰。因此本文采用这两种前处理方法结合液相色谱串联质谱法快速检测咸鱼中有机磷农药残留，以便对比其除脂和净化效果。



Agilent Technologies

实验部分

材料与试剂

甲酸、乙腈均为色谱纯，购于德国 Merck 公司；乙腈、丙酮、二氯甲烷、硫酸钠等均为分析纯，购于广州分析化学试剂厂；实验用水购于屈臣氏；甲胺磷、乙酰甲胺磷、氧乐果、久效磷、敌百虫、乐果、敌敌畏、杀扑磷、亚胺硫磷、甲基对硫磷、马拉硫磷、三唑磷、啶硫磷、倍硫磷、治螟磷、毒死蜱标准品的浓度均为 100 mg/L，购于农业部环境保护监测所。

Agilent Bond Elut QuEChERS 试剂盒购于安捷伦科技公司。

仪器

Agilent 1200 液相色谱系统

Agilent 6410 三重四极杆液质联用系统

IKA 公司摇床、T26 匀浆机

SIGMA 公司高速冷冻离心机 3K30

Organomation 公司 MUL-TIV APTM 氮吹仪

瑞士 BuCHI 公司旋转蒸发仪

国标前处理法

称取 5 g 咸鱼样品，加入 20 mL 丙酮，匀质机匀浆，10000 rpm 4 °C 冷冻离心 5 min，吸取 10 mL 上清液于分液漏斗中，加入 20 mL 20 g/L 的无水硫酸钠溶液，再加入 20 mL 二氯甲烷，摇晃提取 2 min，静置分层，把下清液放入装有 2 g 无水硫酸钠和 5 g 中性氧化铝的锥形瓶中，再用 20 mL 二氯甲烷再次提取，合并两次提取液，鸡心瓶口放滤纸，把锥形瓶中液体倒入，最后再用 10 mL 二氯甲烷清洗锥形瓶后倒入鸡心瓶，不设定温度下滤液旋蒸至干，2.5 mL 初始流动相定容，漩涡震荡 1 min，10000 rpm/min 4 °C 离心 5 min，取上清液于样品瓶中，待液质联用系统检测。

QuEChERS 前处理法

称取 5 g 咸鱼样品，加入 10 mL 冰冻乙腈，匀质机匀浆，加入陶瓷均质子，加入 Agilent Bond Elut QuEChERS 提取包，剧烈震荡 3 min，10000 rpm 4 °C 冷冻离心 5 min，全部上清液倒入有陶瓷均质子的 Agilent Bond Elut QuEChERS 分散固相萃取净化管中，剧烈震荡 3 min，漩涡震荡 1 min，10000 rpm 4 °C 冷冻离心 5 min，吸取 0.2 mL 上清液，初始流动相定容到 1 mL，待液质联用系统检测。

液相色谱条件

色谱柱:	Agilent Poroshell 120 SB-C18, 2.1x100 mm, 2.7µm
柱温:	45 °C
流速:	0.3 mL/min
进样量:	10 µL
流动相 A:	含 0.1% 甲酸的水
流动相 B:	含 0.1% 甲酸的乙腈
梯度洗脱:	时间 (min) B (%)
	0.0 2
	1.0 2
	1.01 35
	2.50 40
	7.00 60
	10.00 95
	14.00 2

质谱条件

电离方式:	电喷雾离子源 (ESI+)
检测模式:	多反应检测 (MRM)
毛细管电压:	4000V
干燥气流量:	10 L/min
干燥气温度:	350 °C
雾化器压力:	50 psi
定性离子对、定量离子对及碰撞能量:	见表 1

表 1. 待测物的质谱参数

分析物	出峰时间	母离子	子离子	碎裂电压	碰撞能
甲胺磷	2.14	142	125*	74	12
			94	74	12
乙酰甲胺磷	3.47	184.2	125*	74	16
			111	74	20
氧乐果	4.99	214.2	183*	82	8
			125	82	20
久效磷	5.43	224.2	127.1*	50	12
			58.2	50	24
敌百虫	5.78	257	221*	120	10
			109	120	13
乐果	6.12	230.1	199*	82	4
			125	82	20
敌敌畏	7.09	220.9	109*	124	20
			79	124	25
杀扑磷	9.21	303	145*	74	4
			85.1	74	20
亚胺硫磷	9.52	318.3	160	74	8
			77.1*	74	60
甲基对硫磷	10.02	264.1	232*	122	12
			125	122	10
马拉硫磷	10.55	331.4	127*	82	8
			99	82	20
三唑磷	10.72	314.2	162.1*	110	16
			97.1	110	40
噻硫磷	11.43	299.3	119.1*	110	44
			97	110	40
倍硫磷	11.71	279	247*	118	15
			169	118	12
治螟磷	12.11	323	171*	118	8
			97	118	36
毒死蜱	13.21	351.6	199.9*	124	20
			97	124	28

*为定量离子

结果与讨论

液相色谱柱选择

分别使用 Poroshell 120 SB-C18 (2.1x100 mm, 2.7 μm)、ZORBAX SB-C18 (2.1 x 150 mm, 3.5 μm) 和 Atlantis T3 (2.1 x 150 mm, 3.5 μm) 色谱柱对 0.5 ppb 的 16 种有机磷农药混合标准溶液进行分析。如图1所示, 采用 Poroshell 120 SB-C18 色谱柱对 16 种有机磷农药进行分离时, 色谱峰的分离效果最好, 且分离时间短。

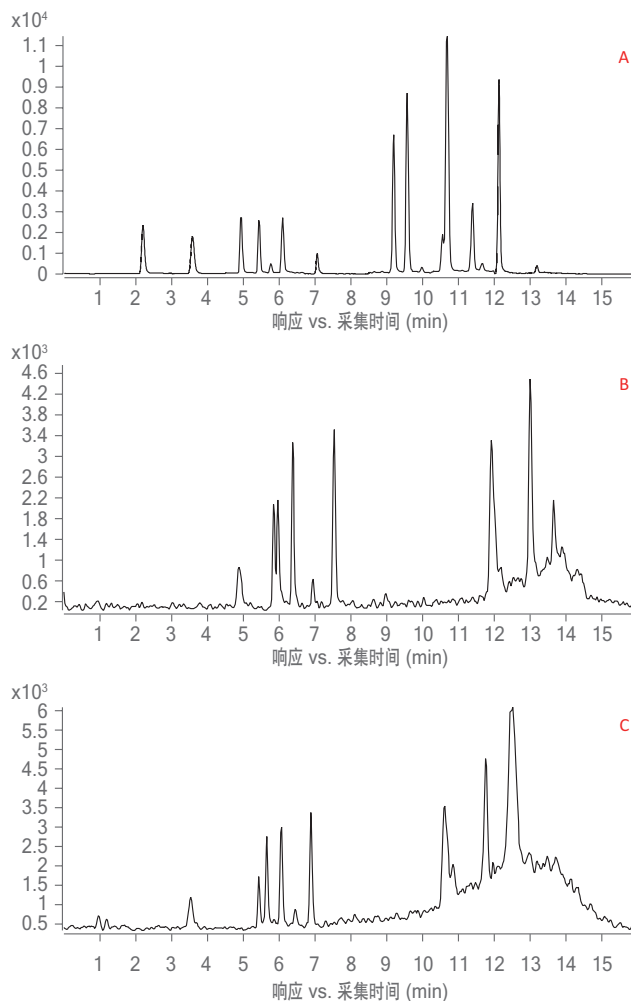


图 1. 0.5 ppb 有机磷农药混合标准溶液的 TIC 图 (A, Poroshell 120 SB-C18; B, ZORBAX SB-C18; C, Atlantis T3)

样品前处理方法优化

本文分别使用国标和 QuEChERS 方法对咸鱼样品进行前处理, 以便对比这两种方法的净化效果。如图 2 所示, 咸鱼样品中油脂含量高, 杂质成分较为复杂, 国标前处理方法 (黑色基线) 的净化效果不理想, 在空白样品 TIC 图中可以明显看到基线噪音较大; 而 QuEChERS 前处理方法 (红色基线) 的净化效果较好, 基线噪音较小。

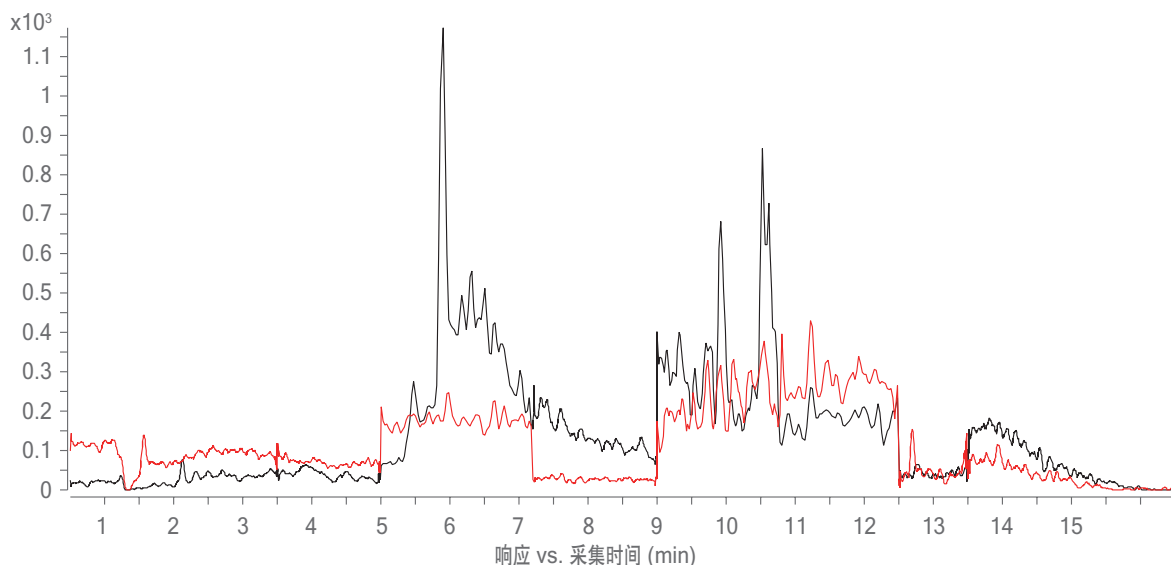


图 2. 两种前处理方法所得空白样品 TIC 图 (黑色为国标方法, 红色为 QuEChERS 方法)

线性范围、相关系数和定量限

采用文中所述实验条件, 依次对 0.5、1、2、5、10、20 ng/ml 的混合标准溶液进行分析, 记录色谱图。以不同浓度点为横坐标 (X), 以每个浓度点下各有机磷农药特征离子峰的峰面积为纵坐标 (Y), 绘制标准曲线。如表 2 所示, 本文所述方法在线性范围 0.5 - 20 ng/mL 内, 16 种有机磷农药的线性相关系数良好, 均在 0.991-0.999 之间。

通过各有机磷农药的特征离子色谱峰信噪比 $S/N > 10$, 计算得到方法定量限 (LOQ), 如表 2 所示。

定量限、回收率和精密度

在空白样品中分别添加浓度水平为 10、20、40 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 的混合标准溶液, 做 2 次平行实验, 进行方法回收率和精密度讨论。如表 3 所示, 对比两种前处理方法的回收率和标准偏差可以得到, QuEChERS 前处理方法的平均回收率和相对标准偏差均优于国标前处理方法, 表明 QuEChERS 方法的准确率更高、重复性更好。此外, 实验中发现, 国标方法在旋蒸浓缩过程中, 当温度超过大气压下 $80\text{ }^\circ\text{C}$ 时, 部分有机磷农药会发生分解, 导致回收率下降或显现回收率为零的状况, 所以在旋蒸浓缩的时候不设任何温度。

表 2. 16 种有机磷农药的线性方程和相关系数

分析物	线性方程	相关系数	LOQ
甲胺磷	$y=10358.187377x+339.922429$	0.9999	0.44
乙酰甲胺磷	$y=9054.838527x+2709.943016$	0.9981	0.57
氧乐果	$y=6164.665331x+1195.690532$	0.9992	0.41
久效磷	$y=9248.352377x+822.780537$	0.9986	0.50
敌百虫	$y=1732.687679x+59.145321$	0.9998	1.02
乐果	$y=10829.334041x-180.824597$	0.9915	0.29
敌敌畏	$y=4368.674093x-612.528836$	0.9998	0.88
杀扑磷	$y=19146.452539x+6517.004383$	0.9952	0.15
亚胺硫磷	$y=32803.224297x+6481.263774$	0.9989	0.32
甲基对硫磷	$y=791.358518x-150.989407$	0.9996	0.09
马拉硫磷	$y=5210.165070x+1753.591261$	0.9933	0.21
三唑磷	$y=57890.824345x+11698.930679$	0.9992	0.23
嗪硫磷	$y=12991.074637x-1119.485222$	0.9997	0.32
倍硫磷	$y=1513.646719x-111.735279$	0.9993	1.60
治螟磷	$y=26768.220959x-510.129441$	0.9955	0.12
毒死蜱	$y=1070.323086x-155.970179$	0.9987	2.50

表 3 添加回收率和精密度数据 (n=2)

分析物	添加浓度 (ug/kg)	QuEChERS 平均回收率 (%)	QuEChERS 相对标准偏差 (%)	国标 平均回收率 (%)	国标 相对标准偏差 (%)
甲胺磷	10	55.45	6.47	46.62	8.60
	20	57.84	4.77	49.56	5.99
	40	59.55	2.67	52.67	3.96
乙酰甲胺磷	10	56.87	8.91	59.46	6.44
	20	67.41	2.01	60.24	4.57
	40	66.23	2.06	65.77	4.02
氧乐果	10	72.34	1.91	55.12	9.39
	20	76.79	1.99	53.21	7.91
	40	81.96	4.64	64.02	8.03
久效磷	10	87.28	0.74	99.98	1.34
	20	91.73	0.20	93.86	2.23
	40	99.76	2.53	98.76	4.85
敌百虫	10	75.12	4.41	90.74	5.35
	20	85.30	3.50	99.40	1.23
	40	84.55	0.71	84.43	1.40
乐果	10	87.65	2.11	90.62	5.38
	20	94.34	0.06	90.22	2.44
	40	91.91	3.41	97.34	5.86
敌敌畏	10	93.54	0.34	91.80	0.99
	20	80.99	1.45	99.41	1.23
	40	86.87	4.29	97.34	5.35
杀扑磷	10	67.29	7.95	99.12	6.41
	20	73.86	3.38	98.18	4.91
	40	86.39	5.44	89.46	5.85
亚胺硫磷	10	54.77	4.83	50.49	8.99
	20	78.02	5.49	53.15	6.06
	40	85.09	2.05	65.72	6.28
甲基对硫磷	10	100.37	7.30	91.34	4.78
	20	95.85	6.98	85.52	5.81
	40	96.27	1.25	91.74	4.56
马拉硫磷	10	61.34	7.51	88.80	9.87
	20	95.52	5.95	85.23	3.76
	40	89.68	2.66	88.33	5.39
三唑磷	10	65.50	7.74	49.78	7.56
	20	81.90	7.25	56.86	6.77
	40	99.02	4.18	58.44	8.73
嗪硫磷	10	80.84	0.32	56.79	7.89
	20	84.26	0.66	59.34	6.67
	40	88.45	1.65	57.12	9.25
倍硫磷	10	91.33	1.80	68.31	7.98
	20	87.08	6.39	61.42	8.99
	40	88.74	2.29	64.34	8.79
治螟磷	10	70.06	1.07	66.80	6.95
	20	68.31	3.34	66.11	8.54
	40	71.23	4.12	67.40	9.77
毒死蜱	10	77.46	1.08	58.72	7.45
	20	81.35	2.42	78.98	5.71
	40	83.24	1.80	108.38	3.18

结论

本文建立了咸鱼中 16 种有机磷农药残留的液相色谱串联质谱检测方法，并采用两种前处理方法对加标样品进行分析。结果表明，本文所述液相色谱串联质谱检测方法可对 16 种有机磷农药进行分离，分析效果好且分离时间短。通过对比实验可以得到，与国标前处理方法相比，QuEChERS 前处理方法的提取效率更高、净化效果更好、灵敏度更高、重现性更好，适用于咸鱼中有机磷农药残留检测的实际工作需要。

参考文献

- [1] 张一宾, 张恽. 农药[M]. 北京: 中国物资出版社, 1997:55-60
[2] GB/T5009.20-2003 食品中有机磷农药残留量的测定【S】

耗材订购信息

Agilent Bond Elut QuEChERS 提取包: 部件号 5982-6650

Agilent Bond Elut QuEChERS 分散固相萃取净化管:
部件号 5982-4950

Agilent Poroshell 120 SB-C18 色谱柱: 2.1 x 100 mm, 2.7 μm ,
部件号 685775-902

查找当地的安捷伦客户中心：

www.agilent.com/chem/contactus-cn

免费专线：

800-820-3278, 400-820-3278 (手机用户)

联系我们：

LSCA-China_800@agilent.com

在线询价：

www.agilent.com/chem/erfq-cn

www.agilent.com

安捷伦对本资料可能存在的错误或由于提供、展示或使用本资料所造成的间接损失不承担任何责任。

本文中的信息、说明和技术指标如有变更，恕不另行通知。

© 安捷伦科技（中国）有限公司，2016

2016年03月20日，中国印刷

5991-6747CHCN



Agilent Technologies