

## 使用 QuEChERS 结合气相色谱 - 三重四极杆串联质谱法测定土壤中 227 种农药残留



### 作者

贺泽英，张艳伟，徐亚平  
农业农村部环境保护科研监测所

王雯雯，吕美玲  
安捷伦科技（中国）有限公司

### 摘要

快速高效的多残留检测方法对于土壤中农药残留的筛查和监测至关重要。本研究开发了基于 QuEChERS 前处理结合气相色谱 - 三重四极杆串联质谱检测土壤中 227 种农药残留的高通量方法。对 QuEChERS 前处理的提取方式、提取时间、缓冲盐、净化条件等参数进行了优化，在最优条件下进行了方法学考查。结果表明：227 种农药在 2-200 $\mu\text{g/L}$  的范围内，线性良好，绝大部分农药的线性相关系数大于 0.99；农药回收率在 70-120% 之间，相对标准偏差  $<20\%$ ；根据不同添加浓度下的准确度和精密度数据确定了本方法的定量限在 2-20  $\mu\text{g/kg}$  之间，78.4% 的农药定量限可低至 2 $\mu\text{g/kg}$ 。将方法用于实际样品的检测，该方法简单、快速、重现性好、灵敏度高，可满足土壤中农药残留的大批量快速筛查和准确定量分析。

## 前言

农药作为重要的生产资料，在防治病虫害、提高农产品品质和产量方面起着重要作用，但是其使用也带来了农药残留的问题。我国是农药使用大国，国家统计局数据显示 2018 年我国农药使用量为 150 万吨，大量使用的农药绝大部分最终会进入土壤，造成土壤污染。农作物能够通过根部吸收将土壤中的农药转运至植物的各个器官和组织中，间接造成农产品中的农药残留，影响农产品质量和安全<sup>[1]</sup>。因此为了保护农田土壤和农产品质量需对土壤中的农药残留进行有效监测。

土壤中的农药残留分析前处理传统上一般采用超声或震荡提取法<sup>[2,3]</sup>，但是震荡法耗时长且溶剂消耗量大，因此逐渐被其他新型前处理方法替代。QuEChERS (Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe) 方法是 2003 年由美国农业部科学家 Anastassiades 等提出的一种新的快速样品前处理技术<sup>[4]</sup>，最初用于高含水量蔬菜水果中农药残留的检测。该前处理方法简单高效，结合液相 / 气相色谱 - 串联质谱的强抗干扰能力，非常适合于农药的多残留检测。因此方法发布以后很快得到了科学界的认可，得到了飞速发展。此后 Anastassiades 及 Lehotay 等人又对该方法进行了深入研究和验证，分别开发了 EN (柠檬酸盐缓冲体系)<sup>[5]</sup> 和 AOAC (醋酸盐缓冲体系)<sup>[6]</sup> 的官方方法。目前 QuEChERS 方法经过进一步发展已广泛应用于植物源性食品中农药残留检测以及其他环境基质中农药残留和其他有机污染物的检测。

为提高土壤中农药残留检测效率，本研究开发了基于 QuEChERS 前处理方法和气相色谱三重四极杆串联质谱同时测定土壤中 227 种农药残留的快速检测方法。研究中对不同提取方法、提取时间、缓冲盐和净化方式进行了优化，并对包括回收率、线性、精密度和基质效应等方法学参数进行了考查，最后进行了实际样品检测。结果表明本方法快速简单高效、适用目标广泛，可用于土壤中农药残留的快速筛查和准确定量。

## 实验部分

### 试剂和样品

乙腈和乙酸乙酯为色谱纯，购于 Fisher Scientific 公司；超纯水由 Milli-Q 制备；QuEChERS 提取试剂包 (内含 4g MgSO<sub>4</sub>；1g NaCl；1g 柠檬酸钠二水合物；0.5g 柠檬酸二钠盐倍半水合物，陶瓷均质子) 部件号 5982-5650；15mL 净化管 (内含 900 mg 无水硫酸镁、150mg PSA) 部件号 5982-5056，以及 C18，PSA 和 MgSO<sub>4</sub> 的散装填料，均购于安捷伦公司。农药标准品购于 Chemservice (West Chester, 美国) 和 Dr. Ehrenstorfer 公司 (Augsburg, 德国)。

### 仪器和设备

Agilent 7890B 气相色谱仪和 7000D 三重四极杆串联质谱配备 HP-5 ms UI 毛细管色谱柱 (30m x 0.25mm x 0.25μm，安捷伦)，部件号 19091S-433UI。多管涡旋混合仪 (AG-DMT-2500，上海欧戈电子有限公司)。N-EVAP 氮吹仪 (Organomation Associates 公司，美国)。

### 标准品制备

标准品分别配制成高浓度单标后配制成混合标准溶液 (5mg/L)，环氧七氯 B 配制成 1mg/L，用作内标溶液。

### 样品前处理

准确称取 5g 土壤样品 (精确至 0.01 g) 于 50 mL 离心管中，加 10 mL 水涡旋混匀，静置 30 min。加入 10 mL 乙腈，加入一个陶瓷均质子，加入提取盐包。将离心管置于多管涡旋仪上涡旋提取 2 分钟。5000 rpm 离心 5 min，取上清液 6 mL 于 15 mL 净化离心管中，涡旋混匀约 1 min。5000 rpm 离心 5 min，准确吸取 2 mL 上清液于 10 mL 试管中，加入 50 μL 的内标溶液，40°C 水浴中氮气吹至近干，加入 1 mL 乙酸乙酯复溶，过微孔滤膜，用于测定。

### 气相色谱条件

载气：	氦气，纯度≥ 99.999%
流速：	1.0 mL/min
升温程序：	60°C 保持 1 min，然后以 40°C /min 程序升温至 120°C，再以 5°C /min 升温至 310°C，总运行时间 40.5 min
进样口温度：	280°C
进样量：	1μL
进样方式：	不分流进样

### 质谱条件

离子源温度：	280°C
传输线温度：	280°C
溶剂延迟：	3 min
采集模式：	多反应监测 (MRM)，具体质谱参数见发表文章 <sup>[7]</sup>

方法验证

对建立的方法进行方法学考查，包括线性、定量限、准确度、精密度和基质效应等。准确度和精密度通过不同浓度的 5 平行添加回收进行考察，并将可以进行准确定性和定量测定的最低添加水平作为方法的定量限（LOQ）。使用基质空白溶液在 2-200µg/L 范围内配制 7 个浓度点的基质标准溶液曲线，同时配制相同浓度的溶剂标曲，以评价方法的线性及基质效应。

结果与讨论

前处理条件优化

1. 提取方法和时间

对于土壤中农药残留的测定，以往的提取方法大都采用振荡或超声法，即便参考 QuEChERS 方法在提取过程中也大都使用振荡法辅以分散固相萃取净化。振荡法虽能保证较好的提取回收率，但是耗时较长，一般需要振荡 20 min 以上，降低了样品前处理效率，故本实验方法考查使用涡旋振荡的方法进行提取。同时考查了提取盐包（柠檬酸盐提取包和氯化钠）以及均质子对提取效果的影响。具体配置见表 1。

表 1. 提取条件配置

序号	条件配置
1	柠檬酸盐提取包 + 均质子 + 涡旋提取 1 分钟
2	柠檬酸盐提取包 + 均质子 + 涡旋提取 2 分钟
3	柠檬酸盐提取包 + 均质子 + 涡旋提取 3 分钟
4	柠檬酸盐提取包 + 涡旋提取 2 分钟
5	NaCl+ 均质子 + 涡旋提取 2 分钟

对于提取时间 1、2、3 的农药回收率无显著差异。1 分钟由于提取时间较短，虽然回收率满足要求但相较于 2 分钟和 3 分钟，总体回收率较分散。因此，为了保证提取效果和缩短提取时间，提取时间选择 2 分钟。不加均质子（配置 4）时回收率明显偏低，且数据偏差较大，而均质子的加入有利于样品提取过程中的均匀性，提高样品提取效率。提取试剂包的使用一方面可以促进相分离，另一方面缓冲盐的加入可以降低一些碱敏感农药的降解、目前 QuEChERS 方法中柠檬酸盐缓冲体系应用最为广泛，因此本实验考查了柠檬酸盐缓冲体和无缓冲体系（NaCl）对回收率的影响。结果发现柠檬酸盐缓冲体系下整体回收率在 80%-100% 之间，而

只使用 NaCl 进行相分离回收率普遍偏高，大部分农药回收率在 100%-120% 之间，因此本实验选择柠檬酸盐缓冲体系进行样品前处理。

净化方式

实验对比了 3 组不同吸附材料组合：(1) 150mg PSA + 900 mg MgSO<sub>4</sub>；(2) 150mg PSA + 150mg C18 + 900 mg MgSO<sub>4</sub>；(3) 300mg PSA +900 mg MgSO<sub>4</sub>；(4) 300mg PSA + 150mg C18 + 900 mg MgSO<sub>4</sub>。评估了每种组合的平均回收率，结果发现，不同组别间回收率差别不显著。最终选择 150mg PSA + 900 mg MgSO<sub>4</sub> 进行净化。

方法验证

在最优实验条件下，对建立的 227 种农药在土壤中的检测方法进行方法学参数的验证。添加回收实验设置 2、5、10、20、50、100 和 200 µg ▪ kg<sup>-1</sup> 等浓度，每个浓度 5 个平行。在考查回收率的同时根据回收率和 RSD 结果确定方法的定量限。方法的定量限（LOQ）定义为满足回收率 > 60% 且 RSD < 20% 的最低添加浓度。结果表明，227 种农药中有 178 种农药 LOQ 为 2 µg ▪ kg<sup>-1</sup>，占总数的 78.4%，其他农药的 LOQ 在 5—20 µg ▪ kg<sup>-1</sup> 之间，部分农药 2 µg ▪ kg<sup>-1</sup> 添加的 MRM 质量色谱图见图 1，说明本方法具有很高的灵敏度和精密度。方法的线性分别使用溶剂加标和基质加标进行评价，涉及浓度为 2、5、10、20、50、100 和 200 µg ▪ kg<sup>-1</sup>。结果表明，227 种农药的基质标准曲线相关系数在 0.967—0.999 之间，绝大部分大于 0.99。基于溶剂标和基质标的线性数据，我们对建立的方法的基质效应按以下公式进行计算：

$$\text{基质效应}(\%) = (\frac{S_m}{S_s} - 1) \times 100$$

式中，Sm，Ss 分别为基质标准曲线和溶剂标准曲线的斜率。基质效应小于 20% 为弱基质效应，20%—50% 为中等基质效应，大于 50% 为强基质效应。由图 2 可见，110 个农药表现出弱基质效应，占全部农药的 48.5%；104 个农药表现出中等基质效应，占全部农药的 45.8%；13 个农药表现出强基质效应，占全部农药的 5.7%。因有超过一半的农药为中等和强基质效应，仍需使用基质标准曲线实现准确定量。

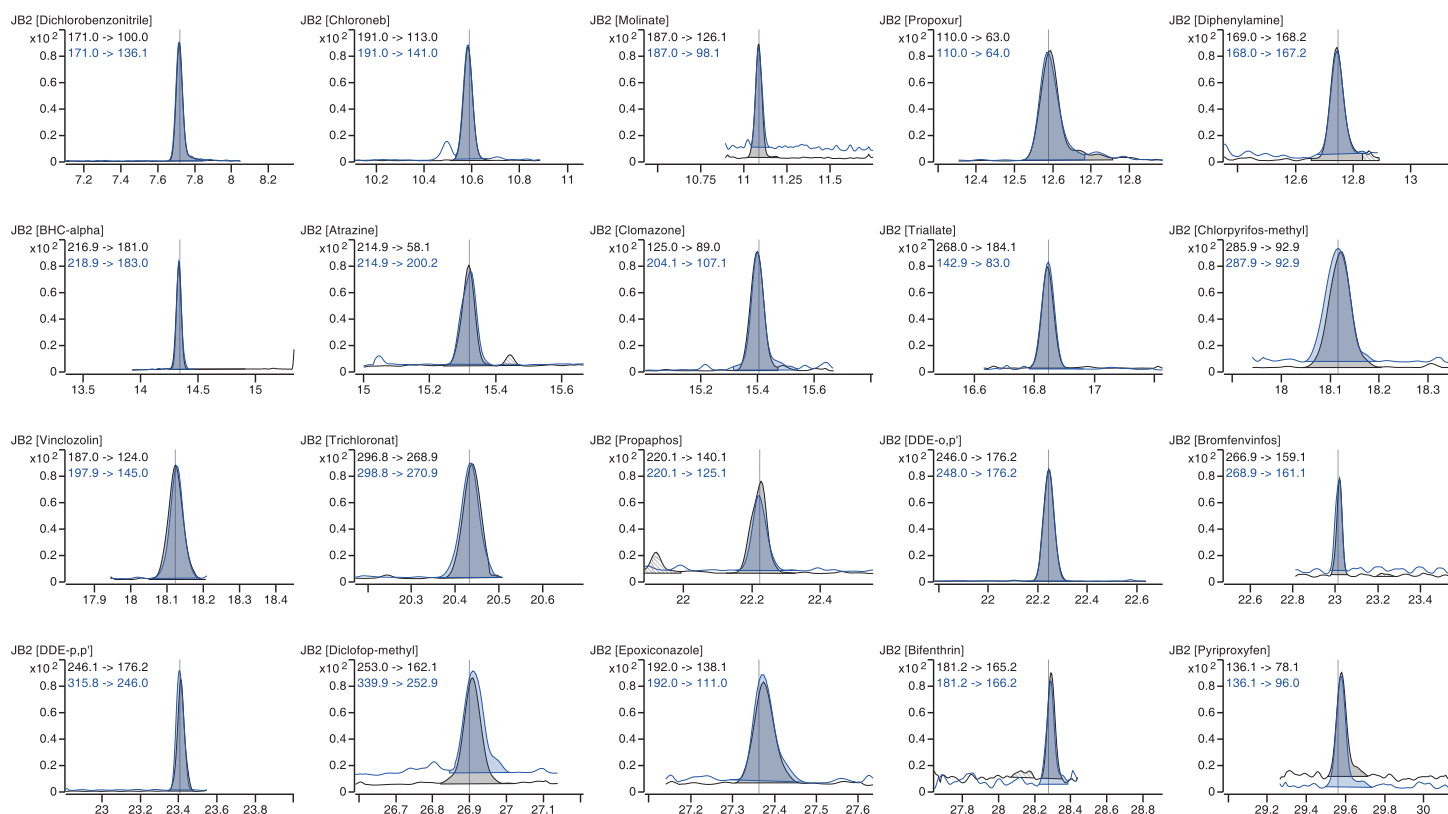


图 1. 部分农药在土壤基质中 $2 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 添加的MRM质量色谱图

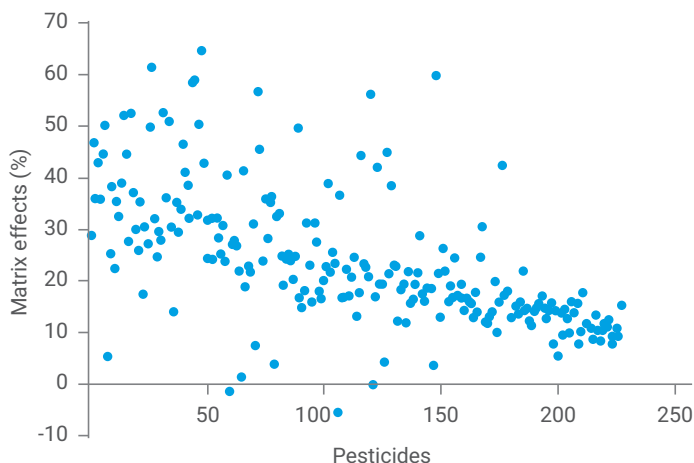


图 2. 农药的基质效应

## 实际样品检测

在山东省泰安市岱岳区不同村镇的温室蔬菜大棚中共采集 20 个土壤样品，按照上述方法进行了农药残留检测，检测结果见图 3。共检出农药 15 种，包括啮菌酯、联苯菊酯、啶酰菌胺、毒死蜱、苯醚甲环唑、烯酰吗啉、噻唑磷、稻瘟灵、马拉硫磷、甲霜灵、腈菌唑、二甲戊灵、腐霉利、吡蚜灵和戊唑醇，其中 9 个杀菌剂、5 个杀虫剂和 1 个除草剂。不同农药检出率和检出浓度差别较大。烯酰吗啉和腐霉利 100% 检出，烯酰吗啉检出浓度较高，最大检出浓度为  $460.7 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。腐霉利浓度较低，最大检出浓度为  $87.0 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。联苯菊酯、啶酰菌胺、毒死蜱、腈菌唑、吡蚜灵和戊唑醇检出率也较高，均大于 55%，其他农药检出率较低。二甲戊灵的检出浓度最高，为  $814.3 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ，二甲戊灵在直播蔬菜田用作播后苗前除草剂，直接喷洒于土壤表面，因此检出浓度较高。

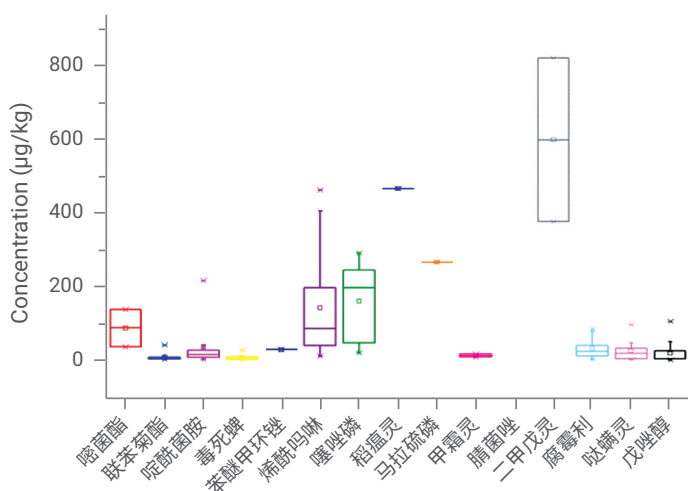


图 3. 实际样品检测结果

## 结论

本研究通过对提取条件和净化条件的优化，建立了土壤中 227 种农药残留的快速检测方法。本方法覆盖农药种类多，前处理简单高效，方法学考查显示该方法具有很好的灵敏度、精密度和重现性。将本方法用于 20 个实际农田土壤样品的分析，取得了很好的应用效果。本方法可用于土壤中农药残留的大范围筛查和定量分析。

## 参考文献

1. 马畅, 刘新刚, 吴小虎, 等. 农田土壤中的农药残留对农产品安全的影响研究进展 [J]. 植物保护, 2020, 46, (02): 6-11.
2. 张璐, 张亚莉, 何强, 等. 超高液相色谱 / 线性离子阱 - 静电场轨道阱高分辨质谱法快速筛查土壤中氨基甲酸酯类农药残留量 [J]. 分析试验室, 2017, 36, (01): 60-65.
3. JOSE F, PILAR H N, MARTNEZ C M, et al. Multiresidue Analysis of Pesticides in Soil by High-Performance Liquid Chromatography with Tandem Mass Spectrometry[J]. Journal of AOAC international, 2019, 92(5):1566-1575.
4. ANASTASSIADES M, LEHOTAY S J, STAJNBAHER D, et al. Fast and easy multiresidue 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.
5. CEN, Foods of plant origin-determination of pesticide residues using GC-MS and/or LC-MS/MS following acetonitrile extraction/partitioning and clean-up by dispersive SPE-QuEChERS-method[S]. In 2008; BS EN 15662:2008.
6. AOAC, Pesticide residues in foods by acetonitrile extraction and partitioning with magnesium sulfate[S]. In 2007; AOAC official method 2007.01.
7. HE Z Y, WANG Y H, WANG L, et al. Determination of 255 pesticides in edible vegetable oils using QuEChERS method and gas chromatography tandem mass spectrometry[J]. Analytical & Bioanalytical Chemistry, 2017, 409: 1017-1030.

查找当地的安捷伦客户中心：

[www.agilent.com/chem/contactus-cn](http://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](mailto:LSCA-China_800@agilent.com)

在线询价：

[www.agilent.com/chem/erfq-cn](http://www.agilent.com/chem/erfq-cn)



微信搜一搜

安捷伦视界

[www.agilent.com](http://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，2021  
2021 年 7 月 20 日，中国出版  
5994-3841ZHCN