



# 快速滤过型净化法应用于气相色谱—串联质谱检测大豆中农药残留

张 鹏, 彭 菲, 刘玮琦, 刘 贺, 马 玲, 刘本伟, 刘振伟, 刘 宁

(满洲里海关技术中心, 内蒙古 满洲里 021400)

**摘 要:**为研究快速滤过型净化法(m-PFC)对大豆基质中 14 种常见农药残留气相色谱-串联质谱(GC-MS/MS)同时检测的适用性,本研究选取两种快速滤过型净化柱(m-PFC 柱)作为净化手段,利用气相色谱-串联质谱进行检测分析,以外标法作为定性定量依据对 14 种农药进行测定,通过对基质效应、净化效果、回收率、多次滤过效果等方面进行评价。结果显示:多数农药在大豆基质中的基质效应影响无法忽略,14 种农药在  $0.005 \sim 0.5 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  范围内线性关系良好,回收率为 85% ~ 110%, RSD 为 4.3% ~ 10.2%, m-PFC 柱 2 (150 mg 无水硫酸镁, 25 mg MWCNTs, 25 mg  $\text{C}_{18}$ , 25 mg PSA) 的净化效果更好,两次滤过次数的净化效果、检测准确度、重复性更佳。本方法可对大豆中 14 种农药进行快速测定,操作简单,效率高,亦具备一定的普适性,可以作为大豆中其他农药残留检测的参考方法。

**关键词:**农药残留; m-PFC; 净化; 气相色谱-串联质谱; 大豆; 检测

## Detection of Pesticide Residues in Soybean by Multi-Plug Filtration Cleanup Combined with Gas Chromatography-Tandem Mass Spectrometry

ZHANG Peng, PENG Fei, LIU Weiqi, LIU He, MA Ling, LIU Benwei, LIU Zhenwei, LIU Ning

(Manzhouli Customs Technology Center, Manzhouli 021400, China)

**Abstract:** This study developed a method for the simultaneous determination of 14 pesticide residues in soybeans using Gas Chromatography-tandem Mass Spectrometry (GC-MS/MS) by multi-Plug Filtration Cleanup (m-PFC) method. Two multi-Plug Filtration Cleanup columns (m-PFC columns) were selected as the cleanup means, and fourteen pesticides were determined by GC-MS/MS with external standards as the qualitative and quantitative basis, and evaluated by matrix effect, cleanup effect, recovery and multiple filtration effect. The results showed that the effect of matrix effect in soybean matrix was not ignorable for most pesticides. The fourteen pesticides showed good linearity in the range of  $0.005\text{-}0.5 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  with recoveries between 85% -110% and RSDs between 4.3% -10.2%. m-PFC column 2 (150 mg anhydrous  $\text{MgSO}_4$ , 25 mg MWCNTs, 25 mg  $\text{C}_{18}$ , and 25 mg PSA) gave better purification results. The two filtrations gave better clean-up, assay accuracy and reproducibility. It can be used as a reference method for the determination of other pesticide residues in soybean.

**Keywords:** pesticide residues; m-PFC; cleanup; Gas Chromatography-Tandem Mass Spectrometry; soybean; detection

大豆是原产于我国的重要粮食作物,已有五千年的栽培历史,是优良植物蛋白、油脂来源,它的油脂、蛋白质、碳水化合物、粗纤维等的构成比例都十分接近于肉类产品<sup>[1]</sup>,其主要副产品豆粕更是不可或缺或的畜禽饲料。全世界对大豆的需要量都在逐渐增加,2020 年我国大豆进口量已经超过 1 亿 t。

杀虫剂的应用是提高大豆生产的有效途径之一,以大豆主产区黑龙江省为例,大豆杀虫剂使用数量长期处于波动增长态势,随着大豆生产能力的持续增加,杀虫剂施用量短期内不会显著减少<sup>[2]</sup>。然而,大豆本身含有很多杂质和干扰物质,如土壤、灰尘、油脂、蛋白质、糖类、色素、酸碱物质等,这些杂质和干扰物质会干扰农药残留的检测结果,降低检测的准确性和可靠性。因此,在进行大豆中农药残留检测之前,必须要对大豆样品进行净化处理。大豆中农药残留检测中常用的前处理方法很多,使

用固相萃取法作为前处理方法的研究,高尧华等<sup>[3]</sup>使用液液萃取冷冻离心-固相萃取净化-GC-MS/MS 法检测大豆、花生及粮油中 56 中农药残留;张春明等<sup>[4]</sup>使用固相萃取-GC-MS/MS 法检测大豆油中 126 种农药残留。使用 QuEChERS 作为前处理方法的研究,张乐等<sup>[5]</sup>使用液液萃取-QuEChERS-HPLC-MS 法检测夏大豆中噻草酮残留量;Theurillat 等<sup>[6]</sup>使用优化的 QuEChERS 方法和 GC-MS/MS 测定脂肪食品中的多农药残留。使用凝胶渗透色谱作为前处理方法的研究,杨晓凤等<sup>[7]</sup>使用凝胶渗透色谱净化/气相色谱-串联质谱法同时测定大豆中 23 种酰胺类除草剂。为了应对比较复杂的基质,通常将两种前处理方法有机结合, Luo 等<sup>[8]</sup>通过将改良的 QuEChERS 方法与凝胶渗透色谱-气相色谱/串联质谱(GPC-GC-MS/MS)联用,提出了一种测定烟草中 10 种农药残留的方法, Huertas 等<sup>[9]</sup>将加压液体萃

取、固相萃取和凝胶净化色谱结合,检测大豆中 8 种农药残留。

快速滤过型净化法 ( multi-Plug Filtration Cleanup, m-PFC) 是将 QuEChERS 方法中使用的吸附剂填入了固相萃取管内进行样品处理,以达到 QuEChERS 净化的效果。其原理是提取液中的基质与填充管内吸附剂产生作用,吸附剂吸附基质中的杂质如脂肪、蛋白质等,而不吸附检测目标物,从而达到净化的目的<sup>[10]</sup> (图 1)。m-PFC 方法相比其他净化方法有着操作简单、效率高的特点,目前国内文献中鲜见使用此法对大豆中农药残留进行检测的先例, m-PFC 法通常被用于果蔬、茶叶、中药材、水产品及肉类中农药、兽药检测<sup>[11-16]</sup>。本研究旨在研究使用 m-PFC 净化法对大豆基质中 14 种农药残留检测的适用性,以期能够采取简单净化步骤获得较好的检测效果。

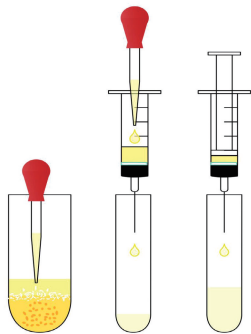


图 1 m-PFC 净化操作示意图

Fig. 1 m-PFC purification operation diagram

1 材料与方法

1.1 材料

供试大豆空白基质样品为进境大豆风险监控样品,经检验 14 种农药残留均未检出。大豆验证样品为随机选取的不同超市、粮油店内在售大豆样品。

1.2 仪器与试剂

BS 150A 电子天平 (上海有声恒器有限公司); XW-200E 型漩涡混合器 (上海青浦沪西仪器厂); HC-3518 型离心机 (安徽中科); 氮气发生器 (美国 parker 公司); Milli-Q 去离子水发生器 (美国 Millipore 公司); 移液器 (美国热电公司); 气相色谱-串联质谱仪 (美国安捷伦公司); 0.22 μm 有机针式滤膜 (上海安谱公司)。

农药标准品: 特丁津、甲基对硫磷、甲霜灵、甲基嘧啶磷、艾氏剂、异丙甲草胺、毒死蜱、三氯杀螨醇、啶氧灵、肟菌酯、戊唑醇、增效醚、伏杀硫磷、哒螨灵 (阿尔塔科技, 1 000 μg·mL<sup>-1</sup>); 冰乙酸 (分析纯, 上海展云化工有限公司); 乙腈 (色谱纯, 美国 Sigma 公司); 乙酸乙酯 (色谱纯, 美国 Honeywell 公司); 氯化

钠 (分析纯, 博纳艾杰尔公司); 无水硫酸镁 (分析纯, 博纳艾杰尔公司); m-PFC 净化柱 1 (150 mg 无水硫酸镁, 15 mg MWCNTs, 15 mg C<sub>18</sub>, 15 mg PSA), m-PFC 净化柱 2 (150 mg 无水硫酸镁, 25 mg MWCNTs, 25 mg C<sub>18</sub>, 25 mg PSA) (北京科德诺思技术有限公司); 所有用水均为去离子水。

1.3 试验设计

首先, 基质效应普遍存在于农药残留检测中, 基质不同, 农药不同, 基质效应表现不同, 为了保证受检农药检测的准确性, 评估各种农药在大豆基质中的基质效应表现情况, 确定是否使用基质标准曲线作为定量手段。

其次, m-PFC 柱的净化填料是否能有效去除大豆样品中的油脂、蛋白质、糖类、色素等杂质, 是净化的关键。本研究选用无水硫酸镁除去水, MWVNTs 除去色素及甾醇类物质, C<sub>18</sub> 去除油脂类物质, PSA 去除脂肪酸、有机酸、一些极性色素和糖类。配置两种不同填料使用量的 m-PFC 柱, 并对两种不同 m-PFC 柱的净化效果、农药回收率进行评估, 选定一款净化柱作为本研究的净化手段。且由于 m-PFC 与传统固相萃取柱不同, 不存在洗脱过程, 所有杂质均吸附在净化柱内, 故尝试多次滤过, 以期获得比单次滤过更好的净化效果。

最后, 使用选定的净化柱进行方法验证试验, 分别确定方法的检出限、定量限、各农药回收率、RSD (Relative Standard Deviation), 并对超市、商店随机购买的大豆样品进行检测。

1.4 方法

1.4.1 样品前处理 购买大豆样品, 用四分法缩分至 300 g, 再用四份法分成两份, 一份留样 (>100 g), 另一份用捣碎机捣碎混匀供分析用 (>50 g)。准确称取捣碎的大豆样品 5.00 g 放入 50 mL 离心管中, 加入 10 mL 去离子水, 充分旋涡混匀后, 静置复水 20 min。加入 15 mL 1% 乙酸乙腈溶液及陶瓷均质子后, 漩涡 1 min 使其充分混匀, 加入 1 g 氯化钠, 4 g 无水硫酸镁, 剧烈震荡后, 漩涡 1 min, 4 200 r·min<sup>-1</sup> 离心 10 min, 使乙腈相与水相分层。移取 3 mL 上层清液至 m-PFC 净化柱中, 匀速推动柱塞杆, 收集 2 mL 上层清液于 10 mL 离心管中, 40 ℃ 水浴氮吹至近干, 以乙酸乙酯复溶定容至 1 mL, 使用有机系滤膜 (0.22 μm) 过滤, 供气相色谱串联质谱仪测定。

1.4.2 标准储备液配制 分别移取特丁津、甲基对硫磷、甲霜灵等 14 种农药标准品 1.0 mL 于不同 10 mL 容量瓶中, 用乙酸乙酯定容, 配制成 100 μg·mL<sup>-1</sup> 的 14 种农药单标中间液。移取各单标中间液 1.0 mL 于 10 mL 容量瓶中, 配制成 10 μg·mL<sup>-1</sup> 的 14 种农残混合标准工作液。根据需要移取标准工作液以乙酸乙酯为溶剂配制成不同浓度的混合标准工作液。

1.4.3 气相色谱串联质谱仪条件 气相色谱端:色谱柱:HP-5MS(30 m×0.25 mm×0.25 μm);色谱柱程序升温条件:40 ℃保持1 min,使用40 ℃·min<sup>-1</sup>升温程序升温至120 ℃,再采用5 ℃·min<sup>-1</sup>升温程序升温至240 ℃;载气:氦气,纯度≥99.999%;流速,1.0 mL·min<sup>-1</sup>;进样口温度:280 ℃;传输线温

度:280 ℃;进样方式:不分流进样;进样量:1 μL。质谱端:电子轰击源:70 eV;离子源温度:280 ℃;四极杆温度:150 ℃;溶剂延迟:5 min;扫描模式为多反应监测模式(MRM),14种农药各选择1对定量离子和1对定性离子,每种农药的保留时间、定量离子对、定性离子对、驻留时间和碰撞电压见表1。

表1 各农药多反应监测参数表  
Table 1 Multi-response monitoring parameters for each pesticide

农药 Pesticide	保留时间 Retention time/min	定量 离子对 Quantification ion	驻留时间 Dwell time/ ms	碰撞电压 Collision voltage/V	定性 离子对 Qualifier ion	驻留时间 Dwell time/ ms	碰撞电压 Collision voltage/V
特丁津 Terbutylazine	16.402	228.9~173.1	5.4	5	172.9~172.0	5.4	5
甲基对硫磷 Parathion-methyl	18.635	262.9~109.0	4.3	10	232.9~109.0	4.3	10
甲霜灵 Metalaxyl	19.180	234.0~146.1	7.0	20	220.0~192.1	7.0	5
甲基嘧啶磷 Pirimiphos-methyl	19.850	290.0~125.0	9.6	20	232.9~151.0	9.6	5
艾氏剂 Aldrin	20.128	262.9~192.9	6.9	35	254.9~220.0	6.9	20
异丙甲草胺 Metolachlor	20.336	238.0~162.2	11.6	10	162.2~133.2	11.6	15
毒死蜱 Chlorpyrifos	20.533	196.9~169.0	11.6	15	198.9~171.0	11.6	15
三氯杀螨醇 Dicofol	20.548	139.0~111.0	11.6	15	250.9~138.9	11.6	15
啉氧灵 Quinoxifen	26.566	237.0~208.1	9.5	30	271.9~237.1	9.5	10
肟菌酯 Trifloxystrobin	27.012	116.0~89.0	14.8	15	131.0~89.0	14.8	30
戊唑醇 Tebuconazole	27.263	250.0~125.0	11.6	20	250.0~153.0	11.6	10
增效醚 Piperonyl butoxide	27.687	176.1~103.1	11.6	25	176.1~131.1	11.6	20
伏杀硫磷 Phosalone	29.406	182.0~111.0	4.3	15	182.0~102.1	4.3	15
啉螨灵 Pyridaben	30.944	147.2~117.1	8.1	20	147.2~132.2	8.1	10

1.4.4 基质效应的计算 使用大豆基质溶液加标和溶剂加标两种方法,以质量浓度为横坐标,定量离子峰的面积 of 纵坐标,绘制相同浓度点的两条标准曲线。通过溶剂标准曲线斜率( $m_{\text{solvent}}$ )和基质标准曲线的斜率( $m_{\text{matrix}}$ ),计算基质效应, $ME(\%) = [(m_{\text{matrix}}/m_{\text{solvent}}) - 1] \times 100^{[17]}$ 。 $ME < 0$  表现为基质抑制效应, $ME > 0$  表现为基质增强效应。 $-20\% \leq ME \leq 20\%$ ,表现为弱基质效应; $-50\% \leq ME \leq -20\%$ 或 $20\% \leq ME \leq 50\%$ ,表现为中等基质效应; $ME < -50\%$ 或 $ME > 50\%$ ,表现为强基质效应<sup>[18]</sup>。

1.4.5 基质标准曲线的制作 分别吸取标准储备液适量配制成0.005,0.01,0.05,0.1和0.5 μg·mL<sup>-1</sup>的14种农药混合标准工作液1 mL,氮气吹至近干,以大豆基质溶液复溶,经旋涡1 min后进行检测,以浓度为横坐标、峰面积为纵坐标进行线性回归分析,获得14种农药的标准工作曲线。

1.4.6 检出限及定量限的确定 检出限的确定以信噪比(S/N)为3:1时的浓度为检出限<sup>[19]</sup>。 $D = 3N/S$ ,式中, $S$ 为检测器灵敏度, $N$ 为噪音, $D$ 为检出限; $S = I/Q$ ,式中, $I$ 为信号响应值, $Q$ 为进样量。将两个公式合并得出检测限计算公式  $D = 3N \times Q/I$ ,而 $I/N$ 即为该进样量下的信噪比(S/N),S/N可以通过仪器工作站给出,计算出该农药在大豆基质中的检出限,再以3倍检出限确定定量限。

1.4.7 净化柱的选择及过柱次数确定 使用两种填料比例的m-PFC净化柱进行前处理。m-PFC净化柱1填料为:150 mg无水硫酸镁,15 mg MWCNTs,15 mg C18,15 mg PSA;m-PFC净化柱2填料为:150 mg无水硫酸镁,25 mg MWCNTs,25 mg C18,25 mg PSA。两种m-PFC柱的填料种类相同,差别仅在于MWCNTs、C18及PSA的用量上。分别使用两种净化柱,添加入0.1 mg·kg<sup>-1</sup>的14种农药,进行6个平行回收试验,确定净化样品中农药的回收率。选取5个大豆空白样品,分别使用两款净化柱和不使用净化柱,按照1.4.1方法进行前处理至吹干氮,然后记录样品管前后质量差值,确定两款净化柱的净化效果,并选择净化效果更好的净化柱作为后续净化手段。

过柱次数确定:使用选择的净化柱,选用相同大豆样品,根据过柱次数与净化效果、回收率之间的关系,确定净化柱过柱的次数。

1.4.8 样品测定 采用基质外标法对大豆中14种农药残留进行定量分析,用乙酸乙酯逐级稀释浓度为10 μg·mL<sup>-1</sup>的14种农药混合标准工作液,配制得到浓度分别为0.005,0.01,0.05,0.1和0.5 μg·mL<sup>-1</sup>的14种农药标准工作溶液,以定量离子的峰面积为纵坐标,浓度为横坐标作标准曲线,并拟合得到线性方程及线性相关系数。根据线性关系及样品峰面



积计算大豆中 14 种农药残留的含量。计算公式为：
$$X = \frac{c \times V}{m} \times f$$
，式中： $X$  为大豆中目标农药含量， $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ； $c$  为通过标准曲线计算得出的样液中目标农药的浓度， $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ； $V$  为定容体积， $\text{mL}$ ； $m$  为称取大豆样品的质量， $\text{g}$ ； $f$  为分取系数。

1.5 数据分析

定性分析软件: MassHuter Workstation Software Qualitative Analysis Version B.07.00 Build 7.0.7024.0。  
定量分析软件: MassHuter Workstation Software Quantitative Analysis Version B.07.00 Build 7.0.457.0。  
数据处理软件: Excel 2013 (15.0.4420.1017) MSO(15.0.4420.1017)。

绘图软件: OriginPro 2021 (64-bit) Version 9.8.0.200。

2 结果与分析

2.1 基质效应

参试的 14 种农药在大豆中的基质效应如表 2 所示:强基质效应 7 种,占比 50.00%;中等基质效应 3 种,占比 21.43%;弱基质效应 4 种,占比 28.57%。基质增强效应的为 13 种,占比 92.86%,基质抑制效应的为 1 种,占比 7.14%。可见,多数农药在大豆基质中的基质效应影响无法忽略,在实际检测中应使用基质标准曲线进行定量分析。

表 2 14 种农药在大豆基质中的基质效应  
Table 2 Matrix effects of 14 pesticides in soybean substrates

农药 Pesticide	溶剂标准曲线斜率 $m_{\text{solvent}}$	基质标准曲线的斜率 $m_{\text{matrix}}$	斜率比值 ME/ %	基质效应强度 Effect of matrix strength
特丁津 Terbutylazine	1341305.14	2331592.93	73.83	强基质效应
甲基对硫磷 Parathion-methyl	109847.55	84478.26	-23.09	中等基质效应
甲霜灵 Metalaxyl	1249355.46	2052373.60	64.27	强基质效应
甲基嘧啶磷 Pirimiphos-methyl	448787.66	1044472.02	132.73	强基质效应
艾氏剂 Aldrin	1629797.80	1648877.53	1.17	弱基质效应
异丙甲草胺 Metolachlor	4815995.00	6689733.33	38.91	中等基质效应
毒死蜱 Chlorpyrifos	1286303.47	1998270.45	55.35	强基质效应
三氯杀螨醇 Dicofol	9054058.45	10683757.51	18.00	弱基质效应
喹氧灵 Quinoxifen	1727334.10	2649670.91	53.40	强基质效应
肟菌酯 Trifloxystrobin	583352.60	877092.01	50.35	强基质效应
戊唑醇 Tebuconazole	74932.19	86471.92	15.40	弱基质效应
增效醚 Piperonyl butoxide	419824.14	590693.22	40.70	中等基质效应
伏杀硫磷 Phosalone	166374.36	189283.06	13.77	弱基质效应
吡螨灵 Pyridaben	244633.68	377296.66	54.23	强基质效应

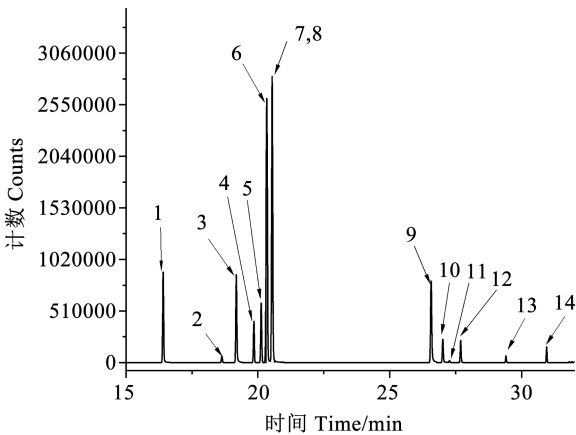
2.2 线性范围、检出限和定量限确定

如表 3 所示,14 种农药残留在其限定范围内相关性良好,相关系数均大于 0.99。14 种农药在设定

的检测条件下,混合标准溶液的多反应监测 MRM 色谱图如图 2 所示。各色谱峰分离效果理想,14 种农药的保留时间见表 1,出峰顺序详见图 2。

表 3 14 种农药残留的线性关系、检出限及定量限  
Table3 Linearity, detection limits and limits of quantification of 14 pesticide residues

农药 Pesticide	线性范围 Linear range/ ( $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ )	检出限 Detection limits/ ( $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ )	定量限 Quantitative limits/ ( $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ )	线性方程 Linear equations	相关系数 (R) Correlation coefficients (R)
特丁津 Terbutylazine	0.005 ~ 0.5	9.28E-04	2.79E-03	$y = 2331592.93x - 21685.29$	0.99952
甲基对硫磷 Parathion-methyl	0.005 ~ 0.5	5.18E-03	1.55E-02	$y = 84478.26x - 453.12$	0.99497
甲霜灵 Metalaxyl	0.005 ~ 0.5	9.82E-04	2.95E-03	$y = 2052373.60x - 4305.11$	0.99592
甲基嘧啶磷 Pirimiphos-methyl	0.005 ~ 0.5	4.21E-04	1.26E-03	$y = 1044472.02x - 897.90$	0.99971
艾氏剂 Aldrin	0.005 ~ 0.5	4.82E-04	1.45E-03	$y = 1648877.53x - 3552.27$	0.99867
异丙甲草胺 Metolachlor	0.005 ~ 0.5	3.32E-04	9.95E-04	$y = 6689733.33x - 13232.30$	0.99861
毒死蜱 Chlorpyrifos	0.005 ~ 0.5	1.83E-03	5.48E-03	$y = 1998270.45x - 3279.30$	0.99887
三氯杀螨醇 Dicofol	0.005 ~ 0.5	4.46E-04	1.34E-03	$y = 10683757.51x - 13849.80$	0.99702
喹氧灵 Quinoxifen	0.005 ~ 0.5	7.63E-04	2.29E-03	$y = 2649670.91x - 5401.86$	0.99864
肟菌酯 Trifloxystrobin	0.005 ~ 0.5	3.28E-03	9.85E-03	$y = 877092.01x - 673.26$	0.99960
戊唑醇 Tebuconazole	0.005 ~ 0.5	5.41E-03	1.62E-02	$y = 86471.92x - 342.67$	0.99926
增效醚 Piperonyl butoxide	0.005 ~ 0.5	1.11E-03	3.33E-03	$y = 590693.22x - 889.79$	0.99993
伏杀硫磷 Phosalone	0.005 ~ 0.5	1.58E-04	4.73E-04	$y = 189283.06x - 642.94$	0.99973
吡螨灵 Pyridaben	0.005 ~ 0.5	2.72E-03	8.16E-03	$y = 377296.66x - 2487.73$	0.99920



注：1. 特丁津；2. 甲基对硫磷；3. 甲霜灵；4. 甲基嘧啶磷；5. 艾氏剂；6. 异丙甲草胺；7. 毒死蜱；8. 三氯杀螨醇；9. 啶氧灵；10. 肟菌酯；11. 戊唑醇；12. 增效醚；13. 伏杀硫磷；14. 啞螨灵。

Note:1. Terbutylazine; 2. Parathion-methyl; 3. Metalaxyl; 4. Pirimiphos-methyl; 5. Aldrin; 6. Metolachlor; 7. Chlorpyrifos; 8. Dicofol; 9. Quinoxifen; 10. Trifloxystrobin; 11. Tebuconazole; 12. Piperonyl butoxide; 13. Phosalone; 14. Pyridaben.

图 2 混合标准溶液的色谱图

Fig.2 Chromatogram of mixed standard solution

2.3 m-PFC 柱的选择

如表 4 所示,两种净化柱对大豆样品均可达到比较满意且稳定的回收率,但 m-PFC 净化柱 2 对应回收率及 RSD 数据普遍更佳。

如表 5 所示,m-PFC 净化柱 2 净化后的残渣量普遍较少,所以后续试验均采用 m-PFC 净化柱 2 作为净化手段。

表 4 两种净化柱回收效果比对

Table 4 Comparison of the recovery effect of two purification columns

农药名称 Pesticide names	添加量 Adding concentrations/ (mg·kg <sup>-1</sup> )	m-PFC 净化柱 1 m-PFC Purification column 1			m-PFC 净化柱 2 m-PFC Purification column 2		
		平均回收量	平均回收率	相对标准 偏差 RSD%	平均回收量	平均回收率	相对标准 偏差 RSD%
		Average recovery	Average		Average recovery	Average	
		Concentration/ (mg·kg <sup>-1</sup> )	recovery rate/%		concentration/ (mg·kg <sup>-1</sup> )	recovery rate/%	
特丁津 Terbutylazine	0.1	0.0873	87.3	6.3	0.0957	95.7	5.5
甲基对硫磷 Parathion-methyl	0.1	0.0858	83.8	7.2	0.0913	91.3	6.4
甲霜灵 Metalaxyl	0.1	0.0937	93.7	5.0	0.0928	92.8	4.3
甲基嘧啶磷 Pirimiphos-methyl	0.1	0.0823	85.3	8.2	0.0891	89.1	6.8
艾氏剂 Aldrin	0.1	0.0911	91.1	6.5	0.0953	95.3	5.3
异丙甲草胺 Metolachlor	0.1	0.0921	92.1	9.1	0.0917	91.7	7.5
毒死蜱 Chlorpyrifos	0.1	0.0901	90.1	8.4	0.0897	89.7	7.3
三氯杀螨醇 Dicofol	0.1	0.0895	89.5	6.5	0.0934	93.4	5.8
啶氧灵 Quinoxifen	0.1	0.0796	79.6	11.8	0.0897	89.7	10.2
肟菌酯 Trifloxystrobin	0.1	0.0843	84.3	7.5	0.0887	88.7	6.9
戊唑醇 Tebuconazole	0.1	0.0868	86.8	6.4	0.0923	92.3	5.7
增效醚 Piperonyl butoxide	0.1	0.0887	88.7	7.9	0.0933	93.3	6.9
伏杀硫磷 Phosalone	0.1	0.0917	91.3	6.2	0.0908	90.8	5.6
啞螨灵 Pyridaben	0.1	0.0898	84.8	5.9	0.0922	92.2	4.9

表 5 不同净化柱净化后的残渣质量

Table 5 Residue quality after purification with different columns				单位:mg
样品编号 Sample number	不使用净化柱 No purification column	净化柱 1 Purification column 1	净化柱 2 Purification column 2	
1 号样品残渣 Sample 1 residue	187	88	68	
2 号样品残渣 Sample 2 residue	177	73	62	
3 号样品残渣 Sample 3 residue	173	75	51	
4 号样品残渣 Sample 4 residue	189	84	71	
5 号样品残渣 Sample 5 residue	169	67	49	

2.4 m-PFC 多次滤过效果的评价

使用 m-PFC 净化柱 2,采取的多次滤过方法,即将首次滤过的溶液收集,重新移入原净化柱,按照相同的滤过速度重复滤过,根据滤过后剩余残渣的质量及回收率评价滤过的效果。1~6 次滤过的残渣质量分别为 68,42,38,39,53 和 64 mg,多次滤过回收率结果如图 3 所示。两次滤过的效果明显好于单次滤过,而从第 3 次开始,目标物的回收率变化不大,且伴随滤过次数增加,残渣质量开始有了少许增加,这可能是由于原本吸附于净化柱填料内的杂质跟随滤液有少量流出所致,且从第 5 次滤过后,回收率下降明显,故对于大豆检测而言,两次滤过效果即可达到满意结果。

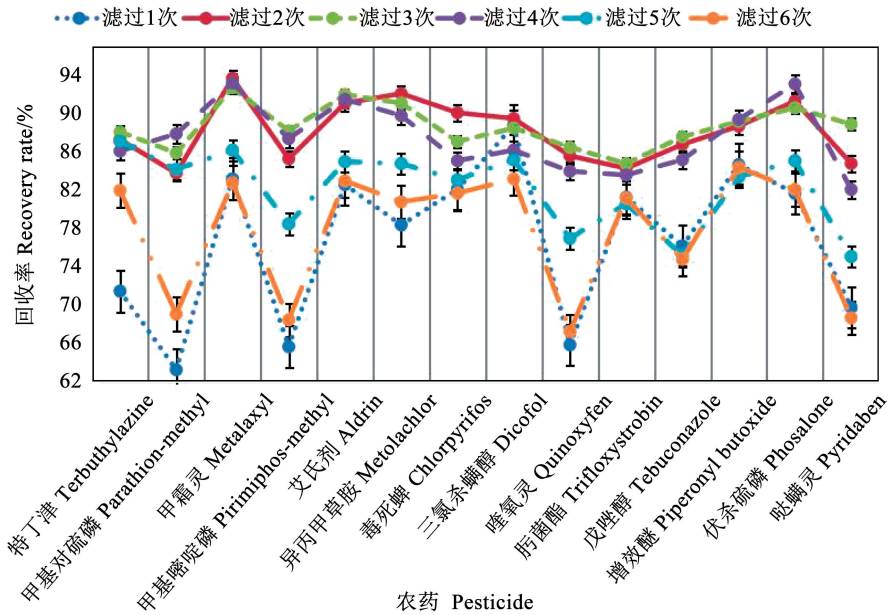


图 3 多次滤过后各种农药的回收率

Fig. 3 Recovery of various pesticides after multiple filtration

2.5 大豆样品检测分析

对不同超市中 18 批次大豆样品进行检测分析,结果均未检出本方法所涉及的 14 种农药残留。检验的 14 种农药中,在国家标准中规定了大豆中最低限量的 9 种,无规定的 5 种<sup>[20]</sup>。通过检测可以发现,大豆中 9 种规定农药的使用符合国家标准要求,未出现不按规定时间施用及超量施用的情况,而无规定的 5 种农药也未在大豆中超范围施用。

3 讨论

大豆样品由于其含脂率高,基质相对复杂,对净化方法要求很高。高尧华等<sup>[3]</sup>净化方法采取冷冻除脂需 1.5 h,虽然除脂效果非常好,但仍需使用传统固相萃取净化以去除其他杂质,净化过程中不可避免地多次使用氮吹浓缩,总体净化效率不高。杨晓凤等<sup>[7]</sup>使用凝胶渗透色谱净化,1 次净化,1 次

浓缩,转溶后即可上机,操作简便,但凝胶渗透色谱需大量有机试剂作为流动相,在检测效率、环保及单样检测成本上不具优势。本研究选择的 m-PFC 是将传统固相萃取技术和 QuEChERS 进行有机结合的净化方法,不需大量提取试剂,不需严格控制过柱流速,过柱时不需洗脱,不需多次离心及氮吹浓缩操作,柱填料的选择范围广,适用性强,单样检测成本较低,检测效率高。研究表明,大豆中 14 种农药使用本净化方法,经 GC-MS/MS 检测,采取基质标准曲线外标法定量,回收率、检出限、RSD 均满足国家标准要求<sup>[21]</sup>。本方法操作简单,效率高,亦具备一定的普适性,为大豆中其他农药残留检测提供了参考依据。而大豆作为典型的油料作物,其基质也有很强的代表性,本研究可为其他油料作物中农药残留检测提供新的思路和方法。

4 结论

本研究建立了使用 m-PFC 前处理技术结合气相色谱-串联质谱仪检测大豆中 14 种农药残留的方法,样品通过 1 次提取,1 次离心,两次重复过柱,氮吹转溶后上机测定。经检测结果验证,14 种农药在 0.005 ~ 0.5 mg · mL<sup>-1</sup> 范围内线性良好,回收率为 85% ~ 110%,RSD 为 4.3% ~ 10.2%,分离效果好,检测准确度高,重复性好。本方法操作简单,效率高,亦具备一定的普适性,为大豆中其他农药残留检测提供了新思路和方法。

参考文献

[1] 胡晶晶. 一份完整的大豆产业分析报告[J]. 营销界, 2020 (45): 76-81. (HU J J. A full analysis of the soybean industry [J]. Marketing Circles, 2020(45): 76-81.)

[2] 孙浩, 姚中统, 刘洋, 等. 黑龙江省大豆田农药用量及未来变化趋势研究与分析[J]. 大豆科学, 2018, 37(6): 932-942. (SUN H, YAO Z T, LIU Y, et al. Research and analysis on pesticide amount and future trend of soybean field in Heilongjiang province[J]. Soybean Science, 2018, 37(6): 932-942.)

[3] 高尧华, 滕爽, 宋卫得, 等. 大豆、花生及粮油中 56 种农药残留的检测方法[J]. 大豆科学, 2018, 37(2): 284-294. (GAO Y H, TENG S, SONG W D, et al. Detection methods of 56 pesticide residues in soya beans, peanuts and grain oils [J]. Soybean Science, 2018, 37(2): 284-294.)

[4] 汪春明, 张洋, 王东斌, 等. 固相萃取-气相色谱-串联质谱法测定大豆油中 126 种农药残留[J]. 农药学报, 2021, 23(2): 405-413. (WANG C M, ZHANG Y, WANG D B, et al. Determination of 126 pesticides residues in soybean oil by solid phase extraction-gas chromatography-tandem mass spectrometry[J]. Chinese Journal of Pesticide Science, 2021, 23(2): 405-413.)

[5] 张乐, 赵文文, 廖锦林, 等. 基于 QuEChERS-HPLC-MS 方法的夏大豆中噻草酮残留研究[J]. 大豆科学, 2021, 40(3): 403-411. (ZHANG L, ZHAO W W, LIAO J L, et al. A study on residue of metribuzin in summer soybean based on QuEChERS-HPLC-MS[J]. Soybean Science, 2021, 40(3): 403-411.)

[6] THEURILLAT X, DUBOIS M, HUERTAS-PÉREZ J F. A multi-residue pesticide determination in fatty food commodities by modified QuEChERS approach and gas chromatography-tandem mass spectrometry[J]. Food Chemistry, 2021, 353: 129039.

[7] 杨晓凤, 洪雪华, 陈敏, 等. 凝胶渗透色谱净化/气相色谱-串联质谱法同时测定大豆中 23 种酰胺类除草剂残留量[J]. 农药, 2021, 60(3): 207-210. (YANG X F, HONG X H, CHEN M, et al. Simultaneous determination of 23 amide herbicide residues in soybean by gas chromatography tandem mass spectrometry[J]. Agrochemicals, 2021, 60(3): 207-210.)

[8] LUO Y B, ZHENG H B, JIANG X Y, et al. Determination of pesticide residues in tobacco using modified QuEChERS procedure coupled to on-line gel permeation chromatography-gas chromatography/tandem mass spectrometry[J]. Chinese Journal of Analytical Chemistry, 2015, 43(10): 1538-1544.

[9] HUERTAS-PÉREZ J F, SEJERØE-OLSEN B, GOKCEN T, et al. Gas chromatography-isotope dilution mass spectrometry method validation for target pesticides in soybeans[J]. Food Additives & Contaminants: Part A, 2019, 36(1): 1-13.

[10] 潘灿平, 赵鹏跃. 一种农药残留的净化方法及其专用净化器: CN103055540B[P]. 2015-03-11. (PAN C P, ZHAO P Y. A method of decontamination of pesticide residues and its special purifier: CN103055540B[P]. 2015-03-11.)

[11] 孟志娟, 黄云霞, 邸鹏月, 等. 快速滤过型净化法结合气相色谱-四极杆-飞行时间质谱同时筛查果蔬中 234 种农药残留[J]. 食品科学, 2020, 41(16): 272-285. (MENG Z J, HUANG Y X, DI P Y, et al. Rapid screening of 234 pesticide residues in vegetables and fruits by multiplug filtration cleanup method combined with gas chromatography-quadrupole time of flight mass spectrometry[J]. Food Science, 2020, 41(16): 272-285.)

[12] 黄云霞, 孟志娟, 赵丽敏, 等. 快速滤过型净化结合气相色谱-串联质谱法同时检测茶叶中 10 种拟除虫菊酯农药残留[J]. 色谱, 2020, 38(7): 798-804. (HUANG Y X, MENG Z J, ZHAO L M, et al. Determination of 10 pyrethroid pesticide residues in tea by gas chromatography-tandem mass spectrometry coupled with multiplug filtration cleanup [J]. Chromatography, 2020, 38(7): 798-804.)

[13] 郝东宇, 席兴军, 初侨, 等. 快速滤过型净化法结合高效液相色谱-串联质谱同时检测人参中的 5 种农药残留[J]. 农药学报, 2019, 21(1): 82-88. (HAO D Y, XI X J, CHU Q, et al. Simultaneous determination of five pesticide residues in ginseng by multiplug filtration cleanup method combined with high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. Chinese Journal of Pesticide Science, 2019, 21(1): 82-88.)

[14] WANG X, ZHANG Q, ZHAO Z, et al. A multi-plug filtration (m-PFC) cleanup method based on carboxylic multi-walled carbon nanotubes for the detection of 14 perfluorinated compounds and dietary risk assessment of chicken, beef, and mutton collected from Shanghai markets[J]. Food Control, 2021, 130: 108330.

[15] SONG L, ZENG W, LI A, et al. Automated multi-plug filtration cleanup method for analysis of 48 pesticide residues in green tea using liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. Food Control, 2022, 131: 108436.

[16] MENG Z, LI Q, CONG J, et al. Rapid screening of 350 pesticide residues in vegetable and fruit juices by multi-plug filtration cleanup method combined with gas chromatography-electrostatic field orbitrap high resolution mass spectrometry [J]. Foods, 2021, 10(7): 1651.

[17] 王思威, 王潇楠, 常虹, 等. QuEChERS 结合高效液相色谱-串联质谱同时测定荔枝龙眼中 3 种农药及代谢物残留[J]. 现代食品科技, 2022, 38(5): 286-295. (WANG S W, WANG X N, CHANG H, et al. Simultaneous determination of three pesticide and their metabolite residues in litchi and longan by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry with QuEChERS[J]. Modern Food Science and Technology, 2022, 38(5): 286-295.)

[18] RUTKOWSKA E, ŁOZOWICKA B, KACZYŃSKI P. Three approaches to minimize matrix effects in residue analysis of multiclass pesticides in dried complex matrices using gas chromatography tandem mass spectrometry [J]. Food Chemistry, 2019, 279: 20-29.

[19] 国家市场监督管理总局. 合格评定 化学分析方法确认和验证指南: GB/T 27417-2017[S]. 北京: 国家标准化管理委员会, 2017: 9. (General Administration of Quality Supervision, Inspection and Quarantine. Conformity assessment-guidance on validation and verification of chemical analytical methods: GB/T 27417-2017[S]. Beijing: National Standardization Administration Committee, 2017: 9.)

[20] 国家卫生健康委员会. 食品安全国家标准 食品中农药最大残留限量: GB 2763-2021[S]. 北京: 国家市场监督管理总局, 2022: 3. (National Health Commission. National food safety standard-maximum residue limits for pesticides in food: GB 2763-2021[S]. Beijing: State Administration for Market Regulation, 2022: 3.)

[21] 国家市场监督管理总局. 实验室质量控制规范 食品理化检测: GB/T 27404-2008[S]. 北京: 国家标准化管理委员会, 2008: 5. (General Administration of Quality Supervision, Inspection and Quarantine. Criterion on quality control of laboratories-chemical testing of food: GB/T 27404-2008 [S]. Beijing: National Standardization Administration Committee, 2008: 5.)