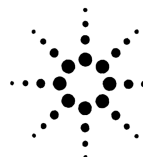


贺泽英, 张艳伟, 王雯雯, 等. QuEChERS-气相色谱三重四极杆串联质谱法测定土壤中 227 种农药残留[J]. 环境化学, 2020, 39(7): 2022-2025.

HE Zeying, ZHANG Yanwei, WANG Wenwen, et al. Analysis of 227 pesticide residues in soil using QuEChERS combined with gas chromatography-triple quadrupole mass spectrometry[J]. Environmental Chemistry, 2020, 39(7): 2022-2025.



安捷伦科技 (Agilent)

QuEChERS-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*

贺泽英¹ 张艳伟¹ 王雯雯² 吕美玲² 徐亚平^{1**}

(1. 农业农村部农产品质量安全环境因子控制重点实验室, 国家农业检测基准实验室 (农药残留),
农业农村部环境保护科研监测所, 天津, 300191; 2. 安捷伦科技 (中国) 有限公司, 北京, 100102)

摘要 本文开发了基于 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 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 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的数据确定了本方法的定量限在 2—20 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 之间, 78.4% 的农药定量限可低至 2 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$. 最后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.

关键词 气相色谱三重四极杆串联质谱, QuEChERS, 农药残留, 土壤.

Analysis of 227 pesticide residues in soil using QuEChERS combined with gas chromatography-triple quadrupole mass spectrometry

HE Zeying¹ ZHANG Yanwei¹ WANG Wenwen² LYU Meiling² XU Yaping^{1**}

(1. Key Laboratory for Environmental Factors Control of Agro-product Quality Safety, National Reference Laboratory for Agricultural Testing P. R. China, Ministry of Agriculture, Agro-Environmental Protection Institute, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Tianjin, 300191, China; 2. Agilent Technologies (China) Company, Ltd., Beijing, 100102, China)

Abstract: Quick and high efficient multiresidue analysis method is critical for screening and monitoring of the pesticide residue in soil. In this study, a high throughput multiresidue method was developed based on QuEChERS sample preparation method combined with gas chromatography-triple quadrupole mass spectrometry. The extraction and clean-up procedures and parameters including extraction method, extraction time, buffer system, and clean-up adsorbent selection were thoroughly investigated and optimized. Most coefficients of determination (r^2) were higher than 0.99 within the calibration linearity range of 2—200 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$. Most recoveries at six spiking levels were in the range of 70%—120% with RSDs < 20% indicating satisfactory accuracy. The limits of quantification (LOQ) for the pesticides were determined based on recovery and accuracy results and ranged from 2 to 20 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$, and for 78.4% of the pesticides the LOQs were 2 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$. Finally, the proposed method was used in real sample analysis. This method was proved to be simple, sensitive and effective, which can be applied for large-scale pesticide screening and quantification in soils.

Keywords: gas chromatography-triple quadrupole mass spectrometry, QuEChERS, pesticide residue, soil.

* 国家重点研发计划 (2016YFD0201203) 资助.

Supported by the National Key R&D Program (2016YFD0201203).

** 通讯联系人, Tel: 022-23611160, E-mail: nyhjzxtj@163.com

Corresponding author, Tel: 022-23611160, E-mail: nyhjzxtj@163.com

土壤中的农药残留分析前处理传统上一般采用超声或振荡提取法^[1-2],但是振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^[3],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)^[4]和 AOAC(醋酸盐缓冲体系)^[5]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.

近年来基于 QuEChERS 方法的土壤中农药残留检测方法已有研究报道.本实验室前期开发了基于 QuEChERS 前处理结合液相色谱-串联质谱和气相色谱-串联质谱的多残留检测方法,可用于土壤中 50 余种农药的检测^[6-7].尹君等使用 QuEChERS 方法结合液相色谱-串联质谱测定了土壤中 67 种农药残留^[8].蔡霖等利用气相色谱-串联质谱和液相色谱-串联质谱相结合,使用 QuEChERS 前处理方法建立了土壤中 110 种农药残留检测方法^[9].

为进一步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.

1 材料与方法 (Materials and methods)

1.1 仪器与材料

仪器:Agilent 7890B 气相色谱仪和 7000D 三重四极杆串联质谱联用仪(安捷伦,美国),配备 HP-5 MS UI 毛细管色谱柱(30 m×0.25 mm×0.25 μm,安捷伦).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).

试剂与材料: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 4 g 硫酸镁、1 g 氯化钠、1 g 柠檬酸钠、0.5 g 柠檬酸氢二钠)、15 mL 净化管(内含 900 mg 无水硫酸镁、150 mg PSA)、陶瓷均质子、15 mL 和 50mL 离心管均购于安捷伦公司.227 种农药标准品购于 Chemservice (West Chester, 美国)和 Dr. Ehrenstorfer 公司(Ausberg, 德国).标准品分别配制成高浓度单标后配制成混合标准溶液(5 mg·L⁻¹),环氧七氯配制成 1 mg·L⁻¹,用作内标溶液.

1.2 样品前处理

准确称取 5 g 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,加入陶瓷均质子,加入 QuEChERS 提取试剂包.将离心管置于多管涡旋仪上涡旋提取 2 min. 5000 r·min⁻¹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 r·min⁻¹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.

1.3 仪器分析

气相色谱条件,载气:氦气,纯度≥99.999%,流速 1.0 mL·min⁻¹;升温程序:60 °C 保持 1 min,然后以 40 °C·min⁻¹程序升温至 120 °C,再以 5 °C·min⁻¹升温至 310 °C,总运行时间 40.5 min;进样口温度:280 °C;进样量:1 μL;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),具体质谱参数见本实验室的前期实验方法^[10].

1.4 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,并将可以进行准确度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—200 μg·L⁻¹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.

2 结果与讨论 (Results and discussion)

2.1 前处理条件优化

2.1.1 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
Table 1 Combinations for sample extraction

序号	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 min	4	柠檬酸盐提取包+涡旋提取 2 min
2	柠檬酸盐提取包+均质子+涡旋提取 2 min	5	NaCl+均质子+涡旋提取 2 min
3	柠檬酸盐提取包+均质子+涡旋提取 3 min		

对于提取时间 1、2、3 min 的农药回收率无显著差异。1 min 由于提取时间较短,虽然回收率满足要求但相较于 2 min 和 3 min,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 min。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。

2.1.2 净化方式

实验对比了 3 组不同吸附材料组合:(1)150 mg PSA +900 mg MgSO₄;(2)150 mg PSA+150 mg C18+900 mg MgSO₄;(3)300mg PSA+900 mg Mg SO₄;(4)300 mg PSA+150mg C18+900 mg MgSO₄。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 150 mg PSA +900 mg MgSO₄进行净化。

2.2 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、200 μg·kg⁻¹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⁻¹,占总数的 78.4%,其他农药的 LOQ 在 5—20 μg·kg⁻¹之间。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、200 μg·L⁻¹。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:

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

式中,S_m, S_s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 1 可见,140 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。

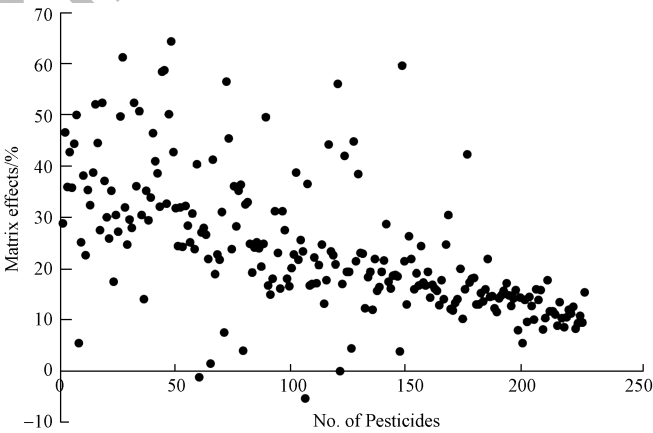


图 1 农药的基质效应
Fig.1 The matrix effects of 227 pesticides

2.3 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 2。共检出农药 15 种包括啉菌酯、联苯菊酯、啉酰菌胺、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、啶螨灵和戊唑醇,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 $460.7\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$,腐霉利浓度较低,最大检出浓度为 $87.0\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$.联苯菊酯、啶酰菌胺、毒死蜱、腈菌唑、啶螨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 $814.3\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$,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.

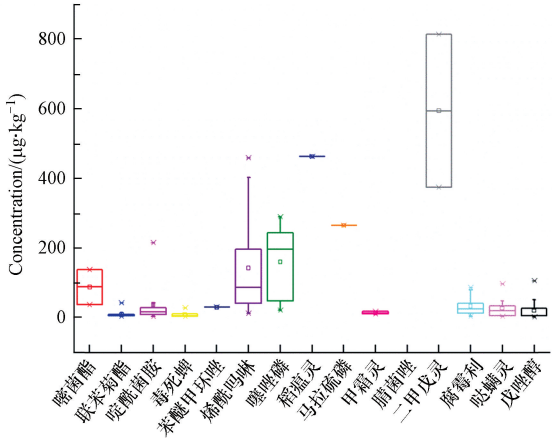


图 2 实际样品检测结果
Fig.2 The results of real samples analysis

3 结论 (Conclusion)

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 (References)

[1] 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]. 分析实验室, 2017, 36 (1): 60-65.
ZHANG L, ZHNAG Y L, HE Q, et al. Determination of 23 carbamate pesticide residues in soil by ultra-performance liquid chromatography-quadrupole/electrostatic field orbitrap mass spectrometry[J]. Chinese Journal of Analysis Laboratory, 2017, 36(1):60-65 (in Chinese).

[2] 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.

[3] 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.

[4] 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]. BS EN 15662:2008.

[5] AOAC. Pesticide residues in foods by acetonitrile extraction and partitioning with magnesium sulfate[S]. AOAC official method 2007.01.

[6] FENG X, HE Z Y, WANG L, et al. Multiresidue analysis of 36 pesticides in soil using a modified quick, easy, cheap, effective, rugged, and safe method by liquid chromatography with tandem quadruple linear ion trap mass spectrometry[J]. Journal of Separation Science, 2015, 38 (17): 3047-3054.

[7] YU Y, LIU X W, HE Z Y, et al. Development of a multi-residue method for 58 pesticides in soil using QuEChERS and gas chromatography-tandem mass spectrometry[J]. Analytical Methods, 2016, 8 (11): 2463-2470.

[8] 尹君, 马琳, 黄兰淇, 等. QuEChERS/超高效液相色谱-串联质谱法同时测定土壤中 67 种农药残留[J]. 分析测试学报, 2018, 37 (5):562-569.
YI J, MA L, HUANG L Q, et al. Simultaneous determination of 67 pesticide residues in soil by QuEChERS/Ultra high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. Journal of Instrumental Analysis, 2018, 37(5):562-569 (in Chinese).

[9] 蔡霖, 席普宇, 谢晴, 等. QuEChERS 方法联合 HPLC-MS/MS 和 GC-MS 测定土壤中 110 种农药残留[J]. 农业环境科学学报, 2017, 36(8):1680-1688.
CAI L, XI P Y, XIE Q, et al. Development of a multiresidue method for determination of 110 pesticide residues in soil using QuEChERS-HPLC-MS/MS and QuEChERS-GC-MS[J]. Journal of Agro-Environment Science, 2017, 36(8):1680-1688 (in Chinese).

[10] 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.