

固相支撑液液萃取结合LC-MS/MS快速测定生乳中32种农药残留

邓 龙, 周 思, 黄佳佳, 曾上敏, 张静文

Determination of 32 Kinds of Pesticide Residues in Raw Milk by Supported Liquid Extraction with LC-MS/MS

DENG Long, ZHOU Si, HUANG Jiajia, ZENG Shangmin, and ZHANG Jingwen

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2022120075>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

QuEChERS/超高效液相色谱-串联质谱法测定茶叶中28种农药残留

Determination of 28 Kinds of Pesticide Residues in Tea by QuEChERS/Ultra Performance Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry

食品工业科技. 2021, 42(2): 223-229,236 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2020040021>

高效液相色谱-串联质谱法同时测定枸杞中31种农药残留

Determination of 31 pesticide residues in Chinese wolfcherry by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry

食品工业科技. 2017(14): 26-30 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2017.14.006>

茶叶中10种农药残留的液相色谱-串联质谱法和气相色谱-串联质谱法测定

Determination of Ten Pesticide Residues in Tea by Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry and Gas Chromatography-Tandem Mass Spectrometry

食品工业科技. 2018, 39(17): 240-247,252 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2018.17.040>

通过式固相萃取-超高效液相色谱-串联质谱法测定猪肉中多种受体激动剂药物残留

Determination of Multiple Receptor Agonist Drug Residues in Pork by Pass-type SPE and Ultra Performance Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry

食品工业科技. 2021, 42(14): 264-271 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2020090182>

QuEChERS-超高效液相色谱-串联质谱法测定葡萄中388种农药残留

Determination of 388 Kinds of Pesticide Residues in Grape by QuEChERS/UPLC-MS/MS

食品工业科技. 2019, 40(21): 256-261,267 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2019.21.042>

超高效液相色谱-串联质谱法测定鸡肉和猪肉中利尿剂残留量

Determination of Residues of Diuretics in Chicken and Swine by Ultra-High Performance Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry

食品工业科技. 2021, 42(3): 230-235 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2020050206>



关注微信公众号，获得更多资讯信息

邓龙, 周思, 黄佳佳, 等. 固相支撑液液萃取结合 LC-MS/MS 快速测定生乳中 32 种农药残留 [J]. 食品工业科技, 2023, 44(17): 360–366. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2022120075

DENG Long, ZHOU Si, HUANG Jiajia, et al. Determination of 32 Kinds of Pesticide Residues in Raw Milk by Supported Liquid Extraction with LC-MS/MS[J]. Science and Technology of Food Industry, 2023, 44(17): 360–366. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2022120075

· 分析检测 ·

固相支撑液液萃取结合 LC-MS/MS 快速测定 生乳中 32 种农药残留

邓 龙¹, 周 思^{2,*}, 黄佳佳¹, 曾上敏¹, 张静文¹

(1. 广东食品药品职业学院, 广东广州 510520;

2. 广州市疾病预防控制中心, 广东广州 510440)

摘 要: 将固相支撑液液萃取与超高效液相色谱串联质谱法结合, 建立生乳中 32 种农药残留的快速检测方法, 为保障生乳食品安全提供技术支持。样品加入乙腈沉淀蛋白, 高速离心分离, 上清液用固相支撑液液萃取小柱净化, C₁₈ 色谱柱梯度洗脱分离后, 经串联质谱电喷雾模式扫描, 多反应监测模式检测, 以基质匹配校准曲线外标法定量。结果表明, 32 种目标物在一定范围内线性关系良好, 相关系数大于 0.9962, 检出限为 0.1~2.5 μg/kg, 定量限为 0.3~7.5 μg/kg, 平均回收率为 69.4%~113.8%, 相对标准偏差 (n=6) 小于 8.2%。该方法简单、快速、可靠, 适用于生乳中 32 种农药残留的测定。

关键词: 固相支撑液液萃取, 超高效液相色谱-串联质谱法, 农药残留。

中图分类号: TS207.3

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2023)17-0360-07

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2022120075

本文网刊:



Determination of 32 Kinds of Pesticide Residues in Raw Milk by Supported Liquid Extraction with LC-MS/MS

DENG Long¹, ZHOU Si^{2,*}, HUANG Jiajia¹, ZENG Shangmin¹, ZHANG Jingwen¹

(1. Guangdong Food and Drug Vocational College, Guangzhou 510520, China;

2. Guangzhou Centre for Disease Control and Prevention, Guangzhou 510440, China)

Abstract: To provide scientific support for guaranteeing food safety in raw milk, a rapid method for the determination of pesticide residues in raw milk was developed using supported liquid extraction technique and ultra-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry. The sample was precipitated with acetonitrile and then separated by high speed centrifugation. The supernatant was purified by SLE column. Separation of pesticide residues was achieved by a CORTECS C₁₈ column. Pesticide residues were detected by ultra-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry with electrospray ionization in the multiple reaction monitoring mode, and the quantification was accomplished by external standard method of matrix standard curve. Method validation revealed satisfactory linearities with correlation coefficients higher than 0.9962, and limits of detection and quantification for target compounds were 0.1~2.5 μg/kg and 0.3~7.5 μg/kg, the average recoveries at three spiked levels were in the range of 69.4%~113.6% with relative standard deviation (RSD, n=6) less than 8.2%. This method is simple, quickly and reliable, and shows great promise for detecting 32 different pesticide residues in raw milk.

Key words: supported liquid extraction; LC-MS/MS; pesticide residues

收稿日期: 2022-12-08

基金项目: 广东省医学科学技术研究基金项目 (A2020197, A2022496); 广东省普通高校青年创新人才项目 (2020KQNCX172); 广东食品药品职业学院自然科学研究项目 (2019ZR21, 2020ZR16, 2022ZR12)。

作者简介: 邓龙 (1985-), 男, 硕士, 讲师, 研究方向: 食品安全, E-mail: gdjldl@163.com。

* 通信作者: 周思 (1988-), 女, 硕士, 高级工程师, 研究方向: 食品安全, E-mail: szhou0109@163.com。

乳及乳制品营养丰富,是人们生活中的重要食品之一。生乳作为配方乳粉、液体乳及其他乳制品的主要原料,其质量安全问题向来是消费者和行业关注的焦点。研究表明,包括生乳在内的动物源性食品不仅受到兽药残留、金属元素等危害因素的影响,还面临着农药残留的污染等问题^[1]。我国作为农业大国,农药用量大、利用率低等问题普遍。环境中的农药残留通过食物、饮水、杀虫、环境接触等途径进入动物体内,易在脂肪含量较高的乳类产品中蓄积,通过食物链持续影响人类健康^[2-3]。对此,食品法典委员会、欧盟等制定了严格的限量标准以降低其对健康造成的风险^[4-5]。我国 GB 2763-2021 规定了生乳中 125 种农药残留的最大限量,涉及检验方法 25 项^[6]。存在操作复杂、项目不全、检出限高于限量值等问题,限量标准配套方法尚不完善^[7-8]。文献报道动物源性食品中农残检测多为肉及其制品、水产品、鸡蛋等^[9-11],有关生乳的检测项目少、种类单一^[10,12],难以满足生乳中农药多残留快速筛查的要求^[12]。因此,建立生乳中农药多残留快速检测方法对保障乳制品食品安全具有现实意义。

生乳中农药多残留检测面临两大挑战:a. 目标物种类多,性质差异大,用同一种方法难以获得好的回收率;b. 含量水平低,基质效应强,前处理复杂,生乳不易保存、时效性要求高^[13]。传统的液液萃取、固相萃取处理步骤多、操作繁琐^[14-15], QuEChERS 影响因素多、方法摸索耗时长^[16-17]、凝胶色谱需专用设备^[18]等,简单、高效的样品前处理方法有待进一步研究^[19]。固相支撑液液萃取(supported liquid extraction, SLE)是 1997 年 Johnson 团队提出的一种新型的样品前处理技术^[20]。以均匀多孔材料为支撑介质,吸附水性样品形成理想的液膜萃取界面,加入与水不相溶的洗脱溶剂后,溶剂与样本之间形成连续的浓度差,从而实现目标物的高效萃取,萃取流程见图 1。SLE 在生物样本中药物、环境污染物、烟草及其代谢物的检测中应用广泛^[21-25]。SLE 本质是液液萃取,但克服了传统液液萃取效率低、易乳化等缺点,且操

作十分简单,只需上样和洗脱两个步骤。在水系样本有机物萃取方面优势明显,可用于生乳中农药多残留样品的前处理,在农药残留方面的应用暂无相关报道。

本研究以农业部《禁限用农药名录》中 32 种高风险禁限用农药残留为目标物,采用固相支撑液液萃取进行样品前处理,结合液相色谱串联质谱在多残留分析中灵敏度高、速度快、抗干扰能力强的优势^[10-12],建立生乳中 32 种农药残留的超高效液相色谱-串联质谱检测方法,为动物源性样品中农药多残留的检测提供新思路。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

32 种农药残留标准品 100 mg/L,农业部环境保护科研监测所;乙腈、甲酸铵、甲酸 LC-MS 级,德国 Merck 公司;二氯甲烷、正己烷、乙酸乙酯 HPLC 级,德国 Merck 公司;去离子水 18.0 MΩ·cm,由 Milli-Q 去离子水发生器制备;生乳样品 采自本地乳品生产企业及鲜乳配送点,4 ℃ 冷藏保存。

ACQUITY Xevo TQ-S 超高效液相色谱-串联质谱仪、Wat200609 固相萃取装置 美国 Waters 公司;IKA MS3 漩涡混合器 德国 IKA 公司;5810R 高速冷冻离心机 德国 Eppendorf 公司;N-EVAP112 氮吹浓缩仪 美国 Organomation 公司;Milli-Q 去离子水发生器 美国 Millipore 公司;SLE 萃取柱 3 mL 美国 Agilent 公司;Mini-UniPrep 聚四氟乙烯非针式过滤器 0.2 μm 英国 Whatman 公司。

1.2 实验方法

1.2.1 标准溶液配制 准确吸取 0.1 mL 单标溶液于 10 mL 容量瓶,乙腈定容至刻度,配制成 1 mg/L 混合标准溶液,用生乳空白基质溶液稀释为 0.2、1、2、5、10、20、50 μg/L 系列标准工作溶液。

1.2.2 样品前处理 准确称取 1 g(精确至 0.01 g)混匀的生乳样品,注入装有 1.5 mL 乙腈的离心管,涡旋混匀,4000 r/min 离心 5 min,取上清液。样品沉淀加入 0.5 mL 水冲洗,合并清液,转移至 SLE 小柱,等待 5 min。用 4.5 mL 二氯甲烷洗脱 2 次,待无液滴落下后抽真空 5 s,洗脱液氮吹至近干,用 20% 乙腈甲酸(0.1%)水溶液定容至 0.5 mL,非针式过滤器过滤。

1.2.3 色谱条件 色谱柱: Waters CORTECS C₁₈ 柱(100 mm×2.1 mm, 2.7 μm);流动相: A 为 0.1% 甲酸溶液(含 5 mmol/L 甲酸铵),B 为 0.1% 甲酸乙腈(含 5 mmol/L 甲酸铵),梯度洗脱程序: 0~2 min, 20% B; 2~13 min, B 升至 100%; 13~15 min, 保持 100% B; 15~16 min, B 降至 20%; 16~18 min, 保持 20% B; 进样体积: 5 μL; 流速: 0.30 mL/min; 柱温: 30 ℃。

1.2.4 质谱条件 离子源: 电喷雾离子源(ESI), 氟虫腈为负离子模式,其余 31 种为正离子模式;监测方式: 多反应监测(MRM)模式;毛细管电压: 3.0 kV;离子源温度: 150 ℃;脱溶剂气温度: 450 ℃;各化合物

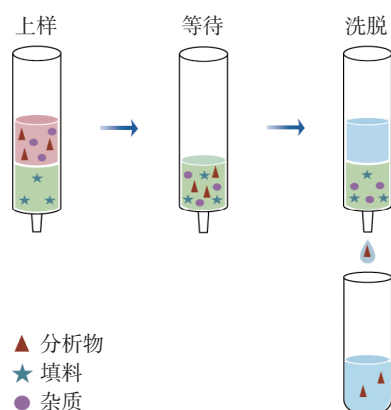


图 1 SLE 实验流程示意图

Fig.1 Schematic diagram of the experimental procedures of SLE

参考保留时间、监测离子、锥孔电压、碰撞电压等参数见表 1。

表 1 32 种目标物的保留时间和质谱参数
Table 1 Retention times and mass parameters of target compounds

序号	化合物	保留时间 (min)	母离子 (m/z)	子离子 (m/z)	锥孔 电压(V)
1	涕灭威砒	1.100	240.0	223.0 [*] , 86.0	23
2	久效磷	1.110	224.1	127.1 [*] , 193.1	28
3	涕灭威亚砒	1.139	207.1	132.0 [*] , 89.0	25
4	杀虫脒	1.730	197.2	117.2 [*] , 46.2	50
5	3-羟基克百威	2.180	238.0	181.1 [*] , 163.2	35
6	硫环磷	3.919	256.0	140.1 [*] , 168.1	35
7	涕灭威	4.751	116.2	89.2 [*] , 70.0	30
8	磷胺	5.332	300.0	174.1 [*] , 127.1	35
9	苯线磷亚砒	5.437	320.0	171.1 [*] , 292.1	30
10	甲磺隆	6.342	382.0	199.2 [*] , 167.3	30
11	克百威	6.407	222.0	165.2 [*] , 123.2	20
12	苯线磷砒	6.456	336.0	266.2 [*] , 188.3	45
13	氯磺隆	6.705	358.0	141.0 [*] , 167.0	15
14	甲拌磷亚砒	6.899	277.0	199.0 [*] , 171.1	25
15	胺苯磺隆	6.997	411.1	196.3 [*] , 168.3	35
16	氟虫腈	7.278	435.0	250.0 [*] , 333.0	25
17	内吸磷	7.719	259.1	89.2 [*] , 61.1	15
18	特丁硫磷亚砒	8.074	305.1	187.2 [*] , 97.0	30
19	甲拌磷砒	8.219	293.0	171.0 [*] , 247.0	25
20	水胺硫磷	8.257	231.0	121.0 [*] , 65.0	40
21	杀扑磷	8.416	303.0	145.0 [*] , 85	10
22	苯线磷	8.801	304.0	214.2 [*] , 234.3	45
23	灭线磷	9.026	243.0	131.1 [*] , 97.0	30
24	特丁硫磷砒	9.176	321.1	171.2 [*] , 143.0	35
25	氯唑磷	10.006	314.0	162.3 [*] , 120.2	30
26	对硫磷	10.393	292.0	264.0 [*] , 235.9	10
27	硫线磷	10.548	271.1	159.2 [*] , 131.1	25
28	蝇毒磷	10.668	363.0	227.2 [*] , 307.1	30
29	甲基异柳磷	10.682	231.0	121.0 [*] , 65.0	40
30	地虫硫磷	10.790	247.0	137.0 [*] , 109.0	14
31	治螟磷	10.891	323.0	171.2 [*] , 115.0	35
32	甲拌磷	10.975	260.9	75.1 [*] , 47.0	20

注:带“*”为定量离子。

1.3 数据处理

采用基质匹配校准曲线外标法定量,通过标准加入法和控制变量法优化实验条件。应用仪器配套 Masslynx 工作站进行数据采集与标准曲线绘制,导出数据使用 Origin 2017 进行数据分析与作图。前处理和分析条件优化中实验重复测试 3 次取均值,回收率与精密度实验重复测试 6 次计算相对标准偏差。

2 结果与分析

2.1 预处理条件优化

生乳含有大量的蛋白、脂肪和磷脂等物质,易残留在液质系统中,改变分析物峰型,增加色谱柱压力,影响离子化效率,上机测试前应尽量去除^[26],固相支撑液液萃取以改性多孔材料为支撑,表面活性低、比

表面积大,可形成微孔液膜实现目标物的高效萃取。同时,保留样本中的磷脂、蛋白等干扰物,有效减少基质干扰^[27]。SLE 只有上样和洗脱两个步骤,上柱样本状态及洗脱液的选取是影响实验的关键因素^[25]。上样前对样本进行稀释、调酸碱度、沉淀蛋白等预处理可以获得更好的萃取与净化效果^[23]。生乳含有大量蛋白直接上柱易造成柱子堵塞影响柱效,采用有机试剂沉淀蛋白后上柱,可大幅降低样品中的蛋白含量,且水溶性有机溶剂的加入可改善部分极性化合物萃取率^[28]。实验比较了甲醇、乙腈、0.1% 甲酸乙腈三种溶剂的沉淀效果,乙腈沉淀效果优于甲醇,少量酸的加入有利于稳定酸性农药但不利于蛋白沉淀,故选择乙腈为沉淀剂。比较加入 0.5、1.0、1.5、2.0 mL 乙腈的沉淀效果,不同体积乙腈沉淀效果见图 2,当加入体积达到 1.5 mL,离心后样本呈澄清状态,且最终回收率在 60%~120% 之间,符合 GB/T 27404 对回收率的要求,故选择 1.5 mL 乙腈进行沉淀。此外,将生乳样品注入乙腈中,可以让样本与溶剂充分接触,沉淀效果更好。

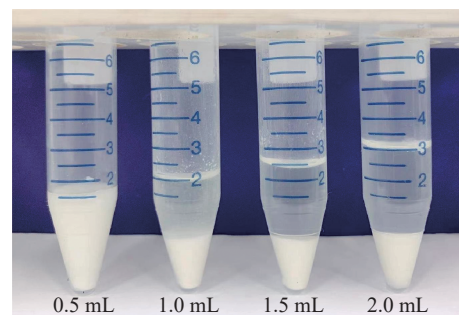


图 2 不同乙腈用量对生乳样品的沉淀效果

Fig.2 Precipitation effect of different acetonitrile volumes on raw milk samples

2.2 萃取柱条件优化

固相支撑液液萃取的本质是目标物在两相中的分配,32 种目标化合物中含有机磷、氨基甲酸酯、磺酰脲、苯基吡唑等多类化合物,油水分配系数差异大,洗脱溶剂的选择需充分考虑目标物的极性和溶解度。实验考察乙酸乙酯、乙腈、二氯甲烷、正己烷四种常用溶剂的洗脱效果。结果表明,正己烷极性小,对苯线磷、涕灭威、久效磷等水溶性较好的农药洗脱效果不佳。乙腈极性大,与水性样本互溶,容易造成样品穿漏,影响净化效果。乙酸乙酯洗脱甲基异柳磷、蝇毒磷、氟虫腈回收率低于 20.0%,二氯甲烷对各目标化合物的回收率均较理想,平均回收率为 69.4%~113.6%,故选择二氯甲烷作为洗脱溶剂。进一步优化洗脱溶剂用量,考察溶剂体积分别为柱容量 2、3、4 倍时的洗脱效果,加标浓度为 10 $\mu\text{g/kg}$ 时总体回收率比较见图 3。由图可知,当体积达到 9 mL 时全部目标物回收率均超过 60.0%,平均回收率为 89.8%,继续增加溶剂体积总体回收率增幅不明显,基于后续操作及环保考虑不再增加溶剂用量。根据

分配定律,同样体积的溶剂多次萃取比单次萃取效率高,比较 9 mL×1 和 4.5 mL×2 洗脱效果,结果与理论一致,最终选择用 4.5 mL 二氯甲烷洗脱 2 次。

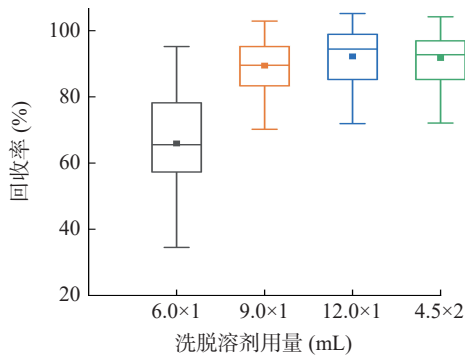


图 3 目标化合物回收率与洗脱溶剂用量的关系

Fig.3 Relationship between the recovery of target compounds and the amount of elution solvent

2.3 色谱条件优化

液相色谱串联质谱分析农药多残留,流动相多选择水、甲醇或乙腈的流动相体系。实验对比了几种常用流动相的分离效果,水相包括 0.1% 甲酸、5 mmol/L 甲酸铵、5 mmol/L 甲酸铵(含 0.1% 甲酸),有机相包括 5 mmol/L 甲酸铵甲醇、5 mmol/L 甲酸铵乙腈、5 mmol/L 甲酸铵乙腈(含 0.1% 甲酸)。实验发现,5 mmol/L 甲酸铵(含 0.1% 甲酸)-5 mmol/L 甲酸铵乙腈(含 0.1% 甲酸)流动相体系分离效果最佳^[17]。乙腈洗作为流动相洗脱力强峰型更加尖锐对称。目标物多为酸性农药,加入少量甲酸有利于 $[M-H]^+$ 离子的生成,保持化合物稳定,减少基质中共萃物的干扰,提高方法的稳定性和重现性。加入甲酸铵有利于 $[M-H]^-$ 离子的生成,增强离子响应强度,同时降低保留时间长的化合物的柱保留,可有效改善色谱峰型^[9]。初始流动相水相比比例过高久效磷等极性较大的化合物难以保留,易与极性基质一起流出影响测定。调低初始水相比比例至 80%,保持 2 min,有利于极性化合物的分离与测定。

2.4 基质效应评价

基质效应(matrix effect, ME)是指受样品基质影响导致化合物响应值增强或抑制的现象^[29]。痕量水平残留检测易受基质效应影响,目前有关动物源性样本对农药残留的基质效应的研究较少。本实验用生乳空白基质标曲与纯溶剂标曲的斜率比值对基质效应大小进行评估。ME 值大于 1.2 为基质增强,ME 值小于 0.8 为基质抑制,ME 值在 0.8~1.2 认为基质效应可接受,32 种农残 ME 值分布见图 4。32 种目标化合物产生基质抑制效应的农残占比 34.4%,产生基质增强效应的农残占比 9.4%。目标物在生乳中的基质效应不可忽略,实验中采用基质匹配标准曲线减小基质效应,提高测定结果的准确度。

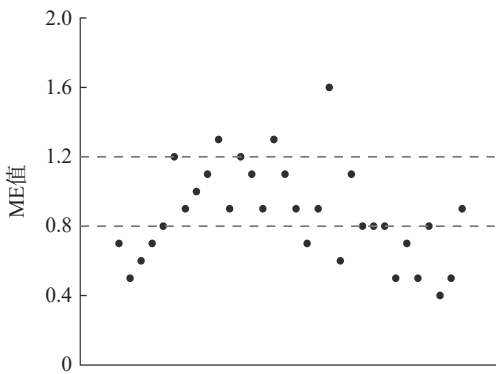


图 4 目标化合物 ME 值分布图

Fig.4 Matrix effect distribution of target compounds

2.5 线性范围和检出限

在优化条件下测试 1.2.1 配制的基质匹配标准工作溶液。以目标物峰面积(y)对质量浓度(x, $\mu\text{g/L}$)进行线性拟合,得到 32 种农药残留的线性方程(见表 2)。由表可知,32 种目标物在相应浓度范围内线性关系良好,相关系数均大于 0.9962。选择低添加水平样品,以 3 倍信噪比($S/N=3$)计算检出限,以 10 倍信噪比($S/N=10$)计算定量限,结合样品前处理过程,得到检出限为 0.1~2.5 $\mu\text{g/kg}$,定量限为 0.3~7.5 $\mu\text{g/kg}$ 。

表 2 线性范围、线性方程、相关系数、方法检出限和定量限

Table 2 Linear equations, linear ranges, correlation coefficients, detection limits and quantitation limits

化合物名称	线性范围($\mu\text{g/L}$)	线性回归方程	相关系数	检出限($\mu\text{g/kg}$)	定量限($\mu\text{g/kg}$)
涕灭威砒	0.5~50	$y=44512.7x+25973.9$	0.9979	0.2	0.6
久效磷	0.5~50	$y=63527.9x+5762.0$	0.9996	0.2	0.6
涕灭威亚砒	2.0~50	$y=6005.3x+1752.7$	0.9980	0.8	2.4
杀虫脒	0.5~50	$y=15750.3x-4292.5$	0.9990	0.4	1.2
3-羟基克百威	0.5~50	$y=34677.5x+6371.4$	0.9998	0.3	0.9
硫环磷	0.5~50	$y=168357.0x-9738.8$	0.9986	0.1	0.3
涕灭威	2.0~50	$y=9532.7x-602.7$	0.9998	0.5	1.5
磷胺	0.2~50	$y=173563.0x+50442.3$	0.9981	0.1	0.3
苯线磷亚砒	0.5~50	$y=24535.2x-1744.0$	0.9995	0.3	0.9
甲磺隆	0.5~50	$y=88118.2x+70700.1$	0.9988	0.2	0.6
克百威	0.2~50	$y=229342.0x+141040$	0.9975	0.1	0.3
苯线磷砒	0.5~50	$y=41128x-1637.1$	0.9995	0.3	0.9

续表 2

化合物名称	线性范围(μg/L)	线性回归方程	相关系数	检出限(μg/kg)	定量限(μg/kg)
氯磺隆	0.5~50	y=24303.8x+3916.4	0.9986	0.3	0.9
甲拌磷亚砷	0.5~50	y=56654.0x-13235.3	0.9993	0.3	0.9
胺苯磺隆	0.5~50	y=147058x+102576	0.9971	0.2	0.6
氟虫腈	1.0~50	y=44988.0x+14936.3	0.9979	0.3	1.0
内吸磷	5.0~50	y=917.3x-493.0	0.9987	2.0	6.0
特丁硫磷亚砷	2.0~50	y=6946.7x+6446.1	0.9976	0.6	1.9
甲拌磷砷	2.0~50	y=5031.4x+1385.4	0.9987	0.7	2.1
水胺硫磷	0.2~50	y=258722x+262847	0.9962	0.1	0.3
杀扑磷	1.0~50	y=19836.9x+4547.4	0.9987	0.4	1.2
苯线磷	0.5~50	y=63199.3x-7672.74	0.9999	0.2	0.6
灭线磷	0.5~50	y=75253.5x-655.612	0.9992	0.2	0.6
特丁硫磷砷	0.5~50	y=12833.0x+2106.1	0.9996	0.4	1.2
氯唑磷	0.5~50	y=54603.2x-5826.5	0.9999	0.3	0.9
对硫磷	2.0~50	y=34248.21-1357.15	0.9979	0.8	2.4
硫线磷	0.5~50	y=99648.7x+39252.1	0.9962	0.2	0.6
蝇毒磷	0.5~50	y=31648.4x-668.3	0.9986	0.3	0.9
甲基异柳磷	0.2~50	y=178788x+492404	0.9974	0.1	0.3
地虫硫磷	0.5~50	y=15988.9x-2226.2	0.9988	0.4	1.2
治螟磷	0.5~50	y=79606.9x+2488.4	0.9984	0.2	0.6
甲拌磷	5.0~50	y=1314.1x-926.2	0.9988	2.5	7.5

2.6 回收率与精密度

选取阴性生乳样品,开展低、中、高 3 水平加标回收实验,平行测试 6 次,结果见表 3。32 种目标物平均

回收率为 69.4%~113.8%,相对标准偏差(RSD, n=6)为 1.4%~8.2%,符合 GB/T 27404^[30] 对食品理化检测的质量控制要求,方法具有良好的回收率与精密度。

表 3 加标回收和精密度的测定结果(n=6)
Table 3 Determination results of recovery and precision (n=6)

化合物名称	回收率(%)			精密度(%)		
	5 μg/kg	10 μg/kg	50 μg/kg	5 μg/kg	10 μg/kg	50 μg/kg
涕灭威砷	79.2	76.2	81.2	6.3	4.9	5.1
久效磷	76.5	84.5	89.1	4.2	4.5	3.7
涕灭威亚砷	96.8	88.9	96.5	2.8	4.1	3.5
杀虫脒	73.3	77.6	81.0	4.0	2.8	5.6
3-羟基克百威	76.5	83.7	86.4	2.7	5.6	3.5
硫环磷	107.6	97.5	98.3	1.5	3.5	1.4
涕灭威	87.6	93.3	92.6	3.6	4.9	2.1
磷胺	92.0	95.9	97.4	6.3	5.6	1.4
苯线磷亚砷	96.5	101.9	98.0	3.1	2.8	2.7
甲磺隆	113.6	105.2	99.9	4.4	2.8	3.3
克百威	89.0	93.4	90.4	3.5	3.5	2.1
苯线磷砷	103.1	93.1	95.4	2.1	2.1	2.8
氯磺隆	95.9	97.8	98.2	4.9	3.5	6.1
甲拌磷亚砷	82.2	72.3	92.1	5.6	6.3	4.2
胺苯磺隆	99.3	99.0	108.1	5.1	2.1	1.9
氟虫腈	108.4	103.1	101.4	3.7	2.6	4.4
内吸磷	111.9	105.2	97.7	2.1	4.9	3.7
特丁硫磷亚砷	102.4	83.9	87.9	2.6	6.3	4.9
甲拌磷砷	97.6	92.5	95.5	4.2	3.5	5.7
水胺硫磷	113.8	98.5	102.6	2.9	4.9	3.5
杀扑磷	69.4	88.5	79.9	5.6	5.6	4.2
苯线磷	94.0	102.4	98.1	6.3	6.3	2.1
灭线磷	80.5	79.8	86.2	1.4	2.2	4.9
特丁硫磷砷	110	96.9	95.8	6.3	1.7	6.3

续表 3

化合物名称	回收率(%)			精密度(%)		
	5 µg/kg	10 µg/kg	50 µg/kg	5 µg/kg	10 µg/kg	50 µg/kg
氯唑磷	79.6	85.0	86.6	2.1	6.1	5.3
对硫磷	88.3	80.5	86.1	4.9	2.4	2.9
硫线磷	98.2	89.3	88.5	8.2	2.1	5.7
蝇毒磷	80.8	94.2	89.7	5.6	5	2.4
甲基异柳磷	96.7	86.9	88.3	5.4	1.8	4.9
地虫硫磷	71.2	86.5	81.0	6.1	6.3	5.6
治螟磷	74.8	79.0	84.3	5.6	2.8	4.2
甲拌磷	84.4	95.0	94.6	2.8	1.9	2.6

2.7 实际样品的检测

采用本方法测定乳品企业样品 9 份, 配送鲜乳样品 9 份, 均未检出 32 种农药残留。

3 结论

本研究结合固相支撑液液萃取在水系样本有有机萃取方面的优势, 建立了生乳中 32 种农药残留的超高效液相色谱-串联质谱快速检测方法。前处理过程无需活化, 沉淀蛋白后上柱洗脱即可, 15 min 内完成样品上柱与洗脱。相比于传统的液液萃取、固相萃取, 简单快速, 影响因素少, 易于自动化。32 种目标物检出限为 0.1~2.5 µg/kg, 定量限为 0.3~7.5 µg/kg, 平均回收率为 69.4%~113.8%, 相对标准偏差小于 8.2%, 符合 GB/T 27404 标准要求。以生乳基质为研究对象, 充实了动物源性食品中农药残留的检测方法, 可为乳制品中农药残留的监管和风险评价提供技术支持。

参考文献

[1] SUH J H. Critical review: Metabolomics in dairy science-evaluation of milk and milk product quality[J]. *Food Research International*, 2022, 154: 110984.

[2] LI C, ZHU H, LI C, et al. The present situation of pesticide residues in China and their removal and transformation during food processing[J]. *Food Chemistry*, 2021, 354: 129552.

[3] TUDI M, DANIEL RUAN H, WANG L, et al. Agriculture development, pesticide application and its impact on the environment [J]. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 2021, 18(3): 1112.

[4] 张峰祖, 朴秀英, 李富根. 国际食品法典委员会动物源性食品中农药最大残留限量制定现状[J]. *农药学报*, 2021, 23(1): 22-30. [ZHANG F Z, PIAO X Y, LI F G. Current situation on setting of pesticide maximum residue limits in food commodities of animal origin in Codex Alimentarius Commission[J]. *Chinese Journal of Pesticide Science*, 2021, 23(1): 22-30.]

[5] 袁娜, 杨臻, 乔璐, 等. 中国与主要贸易国水产品中农药残留限量标准对比分析[J]. *食品安全质量检测学报*, 2021, 12(10): 4244-4256. [YUAN N, YANG Z, QIAO L, et al. Comparative analysis of pesticide residue limit standards in aquatic products between China and major trading countries[J]. *Journal of Food Safety & Quality*, 2021, 12(10): 4244-4256.]

[6] 中华人民共和国国家卫生健康委员会, 中华人民共和国农业农村部, 国家市场监督管理总局. GB 2763-2021 食品安全国家标准 食品中农药最大残留限量[S]. 北京: 中国农业出版社, 2021. [The People's Republic of China, National Health Commission,

Ministry of Agriculture and Rural Affairs, State Administration for Market Regulation. GB 2763-2021 National food safety standard-Maximum residue limits for pesticides in food[S]. Beijing: China Agriculture Press, 2021.]

[7] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会, 中华人民共和国农业农村部, 国家市场监督管理总局. GB 23200.85-2016 食品安全国家标准 乳及乳制品中多种拟除虫菊酯农药残留量的测定 气相色谱-质谱法[S]. 北京: 中国农业出版社, 2016: 2-3. [The People's Republic of China, National Health and Family Planning Commission, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, State Administration for Market Regulation. GB 23200.85-2016 National food safety standards-Determination of multiple pyrethroid pesticide residues in dairy products gas chromatography-mass spectrometry[S]. Beijing: China Agriculture Press, 2016: 2-3.]

[8] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会, 中华人民共和国农业农村部, 国家市场监督管理总局. 23200.86-2016 食品安全国家标准 乳及乳制品中多种有机氯农药残留量的测定 气相色谱-质谱/质谱法[S]. 北京: 中国农业出版社, 2016: 2-3. [The People's Republic of China, National Health and Family Planning Commission, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, State Administration for Market Regulation. GB 23200.86-2016 National food safety standards-Determination of multiple residue of organochlorine pesticides in milk and dairy products gas chromatography-mass spectrometry[S]. Beijing: China Agriculture Press, 2016: 2-3.]

[9] WENG R, LOU S, PANG X, et al. Multi-residue analysis of 126 pesticides in chicken muscle by ultra-high-performance liquid chromatography coupled to quadrupole time-of-flight mass spectrometry[J]. *Food Chemistry*, 2020, 309: 125503.

[10] PARK J A, ABD EL-ATY A M, ZHENG W J, et al. Simultaneous determination of clonobutin, dichlorvos, and naftazone in pork, beef, chicken, milk, and egg using liquid chromatography tandem mass spectrometry[J]. *Food Chemistry*, 2018, 252: 40-48.

[11] HILDMANN F, GOTtert C, FRENZEL T, et al. Pesticide residues in chicken eggs-A sample preparation methodology for analysis by gas and liquid chromatography/tandem mass spectrometry[J]. *Journal of Chromatography A*, 2015, 1403: 1-20.

[12] 文静, 莫楠, 张立佳, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法测定牛乳中氯虫苯甲酰胺、氟苯虫酰胺和 2 甲 4 氯的残留[J]. *食品工业科技*, 2023, 44(5): 285-291. [WEN J, MO N, ZHANG L J, et al. Determination of chlorantraniliprole, flubendiamide and 2-methy 4-chlorophenoxyacetic acid residues in milk by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2023, 44(5): 285-291.]

[13] LEDOUX M. Analytical methods applied to the determination of pesticide residues in foods of animal origin: A review of the

- past two decades[J]. *Journal of Chromatography A*, 2011, 1218(8): 1021–1036.
- [14] BANERJEE K. Novel GC/MS, HPLC/MS, and HPLC-diode array detector-based methods for determination of pesticide residues in food, feed, water, and soil samples[J]. *Journal of AOAC International*, 2010, 93(2): 353–354.
- [15] LI Y, AN Q, ZHANG C, et al. Comparison of Sin-QuEChERS nano and d-SPE methods for pesticide multi-residues in lettuce and chinese chives[J]. *Molecules*, 2020, 25(15): 3391.
- [16] DUBEY J K, PATYAL S K, SHARMA A. Validation of QuEChERS analytical technique for organochlorines and synthetic pyrethroids in fruits and vegetables using GC-ECD[J]. *Environmental Monitoring and Assessment*, 2018, 190(4): 231.
- [17] 张朋杰, 张宪臣, 李云松, 等. QuEChERS 结合超高效液相色谱-四极杆/静电场轨道阱高分辨质谱法快速测定禽畜肉中 157 种农药残留[J]. *Journal of Food Safety & Quality*, 2022, 13(16): 5391–5400. [ZHANG P J, ZHANG X C, LI Y S, et al. Rapid determination of 157 kinds of pesticide residues in livestock and poultry meat by QuEChERS combined with ultra performance liquid chromatography-quadrupole/electrostatic field orbitrap high resolution mass spectrometry[J]. *Journal of Food Safety & Quality*, 2022, 13(16): 5391–5400.]
- [18] 张蓉, 陈跃, 郑培, 等. 凝胶渗透色谱-气相色谱-离子阱质谱法测定桔梗原药和当归提取物中 101 种农药残留[J]. *色谱*, 2023, 41(2): 178–186. [ZHANG R, CHEN Y, ZHENG P, et al. Determination of 101 Pesticide Residues in platycodis radix and extracts of angelica sinensis by gel permeation chromatography gas chromatography-ion trap mass spectrometry[J]. *Chinese Journal of Chromatography*, 2023, 41(2): 178–186.]
- [19] ZHOU S, ZHANG L, GUO C X, et al. Comparing liquid-liquid, solid-phase, and supported-liquid extraction for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in serum samples and their application for human biomonitoring[J]. *Microchemical Journal*, 2022, 181: 107182.
- [20] BREITENBUCHER J G, ARIENTI K L, MCCLURE K J. Scope and limitations of solid-supported liquid-liquid extraction for the high-throughput purification of compound libraries[J]. *Journal of Combinatorial Chemistry*, 2001, 3(6): 528–533.
- [21] BYLDA C, THIELE R, KOBOLD U, et al. Recent advances in sample preparation techniques to overcome difficulties encountered during quantitative analysis of small molecules from biofluids using LC-MS/MS[J]. *Analyst*, 2014, 139(10): 2265–2276.
- [22] YAKIMAVETS V, QIU T, PANUWET P, et al. Simultaneous quantification of urinary tobacco and marijuana metabolites using solid-supported liquid-liquid extraction coupled with liquid chromatography tandem mass spectrometry[J]. *Journal of Chromatography B*, 2022, 1208: 123378.
- [23] MOON J Y, LEE H S, KIM J H, et al. Supported liquid extraction coupled to gas chromatography-selective mass spectrometric scan modes for serum steroid profiling[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2018, 1037: 281–292.
- [24] CHEN S, LI S, FANG K, et al. Rapid determination of 93 banned industrial dyes in beverage, fish, cookie using solid-supported liquid-liquid extraction and ultrahigh-performance liquid chromatography quadrupole orbitrap high-resolution mass spectrometry[J]. *Food Chemistry*, 2022, 388: 132976.
- [25] 商婷, 赵灵娟, 李佩, 等. 固相支撑液液萃取-液相色谱-串联质谱法测定尿液中 10 种单羟基多环芳烃[J]. *分析化学*, 2019, 47(6): 876–882. [SHANG T, ZHAO L J, LI P, et al. Determination of 10 kinds of monohydroxylated polycyclic aromatic hydrocarbons in human urine by supported liquid extraction followed by liquid chromatography tandem mass spectrometry[J]. *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, 2019, 47(6): 876–882.]
- [26] 陈雅莉, 扈洪志, 肖小华, 等. 乳制品样品前处理与分析检测技术研究进展[J]. *分析测试学报*, 2021, 40(7): 1098–1108. [CHEN Y L, HU H Z, XIAO X H, et al. Progress of sample preparation and analytical methods for dairy products[J]. *Journal of Instrumental Analysis*, 2021, 40(7): 1098–1108.]
- [27] ISMAIEL O A, ZHANG T, JENKINS R G, et al. Investigation of endogenous blood plasma phospholipids, cholesterol and glycerides that contribute to matrix effects in bioanalysis by liquid chromatography/mass spectrometry[J]. *Journal of Chromatography B*, 2010, 878(31): 3303–3316.
- [28] KAUFMANN A, BUTCHER P, MADEN K, et al. Multi-residue quantification of veterinary drugs in milk with a novel extraction and cleanup technique: salting out supported liquid extraction (SOSLE)[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2014, 820: 56–68.
- [29] RYSKA M. How to deal with the "matrix effect" as an unavoidable phenomenon[J]. *European Journal of Mass Spectrometry*, 2015, 21(3): 423–432.
- [30] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局. 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: 26–27. [General Administration of Quality Supervision, Inspection and Quarantine of the People's Republic of China. GB/T 27404-2008 Criterion on quality control of laboratories-chemical testing of food[S]. Beijing: China Standards Press, 2008: 26–27.]