农药学学报 2021, 23(3): 603-606
Chinese Journal of Pesticide Science http://www.nyxxb.cn

·研究简报·

doi: 10.16801/j.issn.1008-7303.2021.0054

优化的 QuEChERS-超高效液相色谱-串联质谱法测定韭菜中 31 种农药残留

李浩林[1]， 李桐桐[1]， 董玉英[2]， 禾丽菲[1]， 李北兴[1]， 慕 卫[*,1]

(1. 山东农业大学 植物保护学院 农药毒理与应用技术重点实验室，山东 泰安 271018；
2. 山东省肥城市白云山学校，山东 泰安 271699)

摘 要：基于超高效液相色谱-串联质谱 (UPLC-MS/MS)，建立了同时检测韭菜中 31 种农药残留的分析方法。韭菜样品经乙腈提取，采用优化的 QuEChERS 方法净化后，进行 UPLC-MS/MS 检测。结果表明：在 0.5~100 μg/L 范围内，31 种农药的质量浓度与相应峰面积间呈良好的线性关系，相关系数均大于 0.995，定量限 (LOQs) 为 0.01 mg/kg；在 0.01、0.1 和 1 mg/kg 3 个添加水平下，31 种农药在韭菜中的平均回收率在 70%~102% 之间，相对标准偏差 (RSD) 均小于 11% (n = 5)。该方法快速、简便、可靠、高效，且成本低廉，适用于同时检测韭菜中多种农药的残留量。

关键词: QuEChERS；超高效液相色谱-串联质谱；韭菜；农药；多残留分析

中图分类号：S482; TQ450.263; O657.63 **文献标志码：**A **文章编号：**1008-7303(2021)03-0603-04

Determination of 31 pesticide residues in Chinese chives by modified QuEChERS-ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry

LI Haolin[1], LI Tongtong[1], DONG Yuying[2], HE Lifei[1], LI Beixing[1], MU Wei[*,1]

(1. *Key Laboratory of Pesticide Toxicology and Application Technology*, *College of Plant Protection*, *Shandong Agricultural University*, *Tai'an* 271018, *Shandong Province*, *China*; 2. *Baiyunshan School in Feicheng*, *Tai'an* 271699, *Shandong Province*, *China*)

Abstract: Based on QuEChERS and ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS), a method for simultaneous detection of 31 pesticide residues in Chinese chives was established. The Chinese chive samples were extracted by acetonitrile, cleaned-up by modified QuEChERS method and then analyzed by UPLC-MS/MS. Results showed that good linear relationship was obtained between the mass concentrations of 31 pesticides and the corresponding peak areas in the range of 0.5-100 μg/L with all of the correlation coefficients higher than 0.995, and the LOQs (limits of quantification) of the pesticides were all 0.01 mg/kg. The average recoveries of 31 pesticides ranged from 70%-102% at the spiking level of 0.01, 0.1 and 1 mg/kg with RSDs lower than 11% (n = 5). The method was rapid, simple, reliable, efficient, and low cost, and was suitable for simultaneous determination of 31 pesticide multi-residues in Chinese chives.

收稿日期：2020-10-02；**录用日期：**2020-11-11.
基金项目：国家自然科学基金 (32072463；32001953).
作者简介：李浩林，男，硕士研究生，**E-mail：**1594568916@qq.com；*慕卫，通信作者 (Author for correspondence)，女，教授，研究方向为农药残留分析与环境毒理，**E-mail：**muwei@sdau.edu.cn

Keywords: QuEChERS; UPLC-MS/MS; Chinese chives; pesticide; multi-residue detection

多年生的韭菜由于连作栽培导致其病虫害逐年加重，严重影响韭菜的产量和质量[1-2]。目前，使用化学防治依然是控制韭菜病虫害的主要手段。韭菜的生长期较短，药剂使用剂量增加以及使用时间不当等均会增加其安全间隔期的控制难度，导致韭菜面临农药残留超标的风险，严重影响食品安全[3]，因此亟需建立高效、快速的分析方法以检测韭菜上的农药残留量，评估和防范其农药使用风险。在韭菜前处理过程中会形成大量的共萃物，产生基质效应，影响测定结果的准确性。而层析法净化、渗透凝胶色谱净化和固相萃取净化法等对基质的去除效果均不理想[4]，在对目标化合物的残留检测过程中可能产生严重的基质效应，影响测定结果的准确性[5-6]。QuEChERS 技术操作简便，分析速度快，溶剂使用量少，污染小，在农药多残留分析中已被广泛应用。超高效液相色谱-串联质谱法可以同时检测多种农药的含量，且分析速度快，溶剂使用量少，污染小[7]。鉴于此，本研究选择了韭菜生产中可能使用频率较高的农药作为检测对象，结合基质特点，通过优化传统的 QuEChERS 法，采用 UPLC-MS/MS 建立了韭菜上 31 种农药残留的分析方法，并利用该方法对市场上的韭菜样品进行了监测分析。

1 材料与方法

1.1 药剂与试剂

31 种农药标准品纯度均不低于 98%，购自中国标准物质中心 (表 1)；甲醇和乙腈均为色谱纯 (德国 Dr. Ehrenstorfer 公司)；乙二胺-*N*-丙基硅烷 (PSA) (美国 Agilent 公司)；多壁碳纳米管 (8~20 nm) 和氯化钠 (分析纯) (天津市凯通化学试剂有限公司)；无水硫酸镁为分析纯 (上海阿拉丁生化科技股份有限公司)；试验用水为蒸馏水。

1.2 仪器与设备

UPLC-XEVO TQ-S micro 超高效液相色谱-串联四极杆质谱仪 [配电喷雾离子源 (ESI) 和 Masslynx 4.1 工作站]、ACQUITY UPLC TM BEH C_{18} 色谱柱 (2.1 mm × 100 mm，1.7 μm)(美国 Waters 公司)；BSA124S 万分之一电子天平 (德国 Sartorius 公司)；TDL-40B 高速离心机 (上海安亭科学仪器厂)；T-25 样品匀质机 (德国 IKA 公司)；KQ-500DE 数控超声波清洗器 (昆山市超声仪器有限公司)；QL-901 涡旋混匀器 (江苏海门麒麟医用仪器厂)。

1.3 样品前处理

将日光温室种植的未施用过任何农药的韭菜样品和购自山东省泰安市超市及蔬菜批发市场的样品分别充分匀浆，并准确称取 10 g (精确至 0.01 g) 于 50 mL 离心管中，加入 20 mL 乙腈，混匀，加入 4.0 g 无水硫酸镁和 1.0 g 氯化钠，漩涡振荡 3 min，于 4 000 r/min 下离心 2 min；取 1.5 mL 上清液，置于预先加有 50 mg PSA、150 mg 无水硫酸镁和 5.0 mg 选择性多壁碳纳米管的 2 mL 离心管中，漩涡振荡 3 min，于 4 000 r/min 下离心 4 min；取上清液，过 0.22 μm 微孔滤膜，于 −20 ℃ 保存，待 UPLC-MS/MS 分析。

1.4 检测条件

色谱条件：Waters ACQUITY UPLC TM BEH C_{18} 色谱柱 (2.1 mm × 100 mm,1.7 μm)；柱温 35 ℃；进样体积 2 μL；流动相为 A (0.1% 甲酸 + 2 mmol/L 乙酸铵溶液) +B (甲醇)，流速为 0.30 mL/min。A 和 B 按照如下梯度程序进行洗脱：0.00 min，90 : 10；8.00 min，2 : 98；10.00 min，2 : 98；10.01 min，90 : 10；12.00 min，90 : 10。

质谱条件：电喷雾离子源正离子电离模式 (ESI^+)；毛细管电压 3.0 kV；脱溶剂气温度 350 ℃；碰撞气为氩气，压力 0.2 kPa；多反应监测模式 (MRM)，外标法定量 (表 1)。

1.5 标准溶液配制、标准曲线绘制及基质效应

1.5.1 标准溶液的配制及标准曲线的绘制 分别准确称取一定量的 31 种农药标准品，用乙腈溶解并定容至 10 mL，配制成质量浓度为 500 mg/L 的标准储备液，于−20 ℃ 保存，备用。

分别准确移取 1.0 mL 标准储备液于 100 mL 容量瓶中，用乙腈稀释并定容，配成质量浓度为 10 mg/L 的混合标准储备液，于 4 ℃ 保存。准确移取适量混合标准储备液，用乙腈逐级稀释，配制成质量浓度分别为 5、10、50、100、250、500 和 1 000 μg/L 的系列混合标准溶液。

按 1.4 节的条件测定，以标准溶液中待测农药的峰面积为纵坐标，对应的质量浓度为横坐标绘制标准曲线。

表 1 31 种农药在 UPLC-MS/MS 多反应监测模式下的检测条件

Table 1 Multiple reaction monitoring conditions for the determination of 31 pesticides using UPLC-MS/MS

分析物 Analyte	保留时间 Retention time/min	定量和定性离子对 Quantitative, qualitative ion pair, *m/z*	碰撞能 Collision energy/eV
灭多威 methomyl	2.09	163.00 > 88.00*, 106.00	10, 10
异丙威 isoprocarb	3.98	194.10 > 95.10*, 137.10	15, 10
莠去津 atrazine	3.99	216.10 > 96.00*, 174.00	22, 15
敌敌畏 dichlorvos	3.59	221.00 > 79.00*, 109.00	34, 22
克百威 carbofuran	3.57	222.11 > 123.00*, 165.10	20, 10
乐果 dimethoate	2.82	230.10 > 125.00*, 199.00	10, 20
扑草净 prometryn	4.35	242.10 > 158.00*, 200.00	22, 16
噻虫胺 clothianidin	2.62	250.00 > 132.00*, 169.00	15, 10
吡虫啉 imidacloprid	2.55	256.10 > 175.10*, 209.10	30, 15
敌百虫 trichlorfon	2.81	257.00 > 79.00*, 109.00	30, 15
烯啶虫胺 nitenpyram	1.94	271.10 > 125.90*, 224.90	30, 10
二甲戊灵 pendimethalin	6.39	282.20 > 194.10*, 212.20	17, 10
异丙甲草胺 *S*-metolachlor	4.88	284.00 > 176.00*, 252.00	25, 12
噻虫嗪 thiamethoxam	2.19	292.00 > 132.00*, 211.20	20, 10
三唑酮 triadimefon	4.55	294.10 > 69.30*, 197.20	20, 15
仲丁灵 butralin	6.56	296.20 > 222.00*, 240.00	21, 11
辛硫磷 phoxim	5.31	299.00 > 129.00*, 153.00	13, 7
克线磷 fenamiphos	4.91	304.10 > 202.10*, 217.10	36, 24
二嗪农 diazinon	5.22	305.10 > 96.90*, 169.00	25, 22
戊唑醇 tebuconazole	5.19	308.00 > 70.00*, 125.00	12, 35
吡丙醚 pyriproxifen	6.18	322.10 > 96.00*, 227.10	15, 10
噁草灵 oxadiazon	6.13	345.20 > 220.00*, 303.00	18, 12
毒死蜱 chlorpyrifos	6.31	350.10 > 97.00*, 125.00	34, 14
甲氰菊酯 fenpropathrin	6.31	349.90 > 97.00*, 198.00	32, 20
哒螨灵 pyridaben	6.87	365.10 > 147.10*, 309.10	24, 12
精喹禾灵 quizalofop-p-tefuryl	5.88	373.10 > 271.10*, 299.10	22, 16
丁硫克百威 carbosulfan	7.22	381.00 > 76.00*, 118.00	34, 22
醚菊酯 etofenprox	7.37	394.30 > 106.90*, 177.00	43, 15
氟虫腈 fipronil	4.91	453.90 > 368.10*, 404.25	25, 19
氟啶脲 chlorfluazuron	6.73	539.80 > 158.00*, 382.90	15, 20
阿维菌素 abamectin (B1a)	7.05	895.40 > 183.10*, 751.40	54, 40

注：*表示定量离子。

Note: *Represents the quantitative ion pair.

1.5.2 基质匹配标准溶液的配制及标准曲线的绘制 取匀浆后的韭菜空白样品，按 1.3 节的方法进行前处理，制得空白韭菜基质溶液。将 1.5.1 节的混合标准储备液用空白韭菜基质溶液稀释成质量浓度为 5、10、50、100、250 和 500 μg/L 的系列基质匹配混合标准溶液。按 1.4 节的条件测定，以标准溶液中待测农药的峰面积为纵坐标，对应的质量浓度为横坐标绘制标准曲线。

1.5.3 基质效应 采用标准曲线斜率比值 (slope ratio) [8] 来评价基质效应 (M_e) [9]。当 M_e 在 0.8~1.2 之间表示基质效应可以接受，M_e 越接近 1，基质效应越弱；当 M_e 大于 1 时为基质增强效应；当 M_e 小于 1 时为基质抑制效应。

1.6 添加回收试验

向空白韭菜样品中分别进行 0.01、0.1 和 1 mg/kg 3 个水平的添加回收试验，每个水平重复 5 次，按 1.3 节进行样品前处理，按 1.4 节条件进行测定，计算添加回收率和相对标准偏差。

2 结果与讨论

2.1 多壁碳纳米管用量对 31 种农药添加回收率的影响

本研究在固定 PSA 用量为 50 mg、无水 $MgSO_4$ 用量为 150 mg 条件下，考察了多壁碳纳

米管用量分别为 0、2.5、5、10、15 和 20 mg 对目标物回收率的影响。结果表明，当多壁碳纳米管用量为 2.5~10 mg 时，回收率均在 70%～110%，符合残留试验要求，同时为了提高净化效果，避免对仪器造成污染，综合考虑净化效果与回收率，本研究最终选择选择性多壁碳纳米管用量为 5 mg。

2.2 基质效应、标准曲线

样品基质对所检测的 31 种农药存在明显的基质抑制效应，M_e 值范围为 0.17~0.80，均小于 0.8，故采用基质匹配标准曲线进行定量。以峰面积对农药质量浓度作线性回归，31 种农药在 5~500 μg/L 质量浓度范围内线性关系良好，相关系数均大于 0.995。

2.3 定量限、准确度和精密度

在 0.01、0.1 和 1 mg/kg 3 个添加水平下，31 种农药在韭菜基质中的平均回收率在 70%~104% 之间，相对标准偏差在 2.2%~11% 之间，表明所建立的方法具有良好的准确度和精密度，满足韭菜中常用农药多残留分析的检测要求[10]。以最低添加水平作为方法的定量限 (LOQ)，则 31 种农药的定量限均为 0.01 mg/kg。

2.4 实际样品检测

采用本研究建立的分析方法，在山东省泰安市的超市和菜市场随机购买 15 份韭菜样品进行分析。结果表明：其中有 1 份样品检出吡虫啉，含量为 0.010 mg/kg；1 份检出腐霉利，含量为 0.016 mg/kg，其他样品均未检测到农药残留。在定量检测过程中对目标峰同时进行了子离子确证 (product ion scan，PIC) 定性扫描，明确了结果的可靠性。根据 GB 2763—2019 中对韭菜中农药残留限量 (MRL) 的规定[11]，吡虫啉的 MRL 值为 1 mg/kg，腐霉利为 0.2 mg/kg，表明所有购自市场的韭菜中农药的残留量均未超标。

3 结论

本研究在 QuEChERS 方法的基础上，通过优化多壁碳纳米管的用量，建立的净化方法切实可行，样品前处理操作简便、溶剂消耗少，分析时间短，结合 UPLC-MS/MS 建立的韭菜中 31 种农药残留的快速检测方法具有良好的灵敏度、准确度和精密度，能够满足目前对韭菜上常用农药多残留的检测需要。

参考文献 (References):

[1] YOU X W, JIANG H T, ZHAO M, et al. Biochar reduced Chinese chive (*Allium tuberosum*) uptake and dissipation of thiamethoxam in an agricultural soil[J]. J Hazard Mater, 2020, 390: 121749.

[2] MISAWA T, KUNINAGA S. First report of white leaf rot on Chinese chives caused by *Rhizoctonia solani* AG-2-1[J]. J Genral Plant Pathol, 2013, 79(4): 280-283.

[3] 王明耀, 张桂海, 王学颖, 等. 网棚韭菜病虫防控关键技术[J]. 中国蔬菜, 2008(9): 48-49.
WANG M Y, ZHANG G H, WANG X Y, et al. Key technology of controlling diseases and insect pests of leek in net shed[J]. China Veg, 2008(9): 48-49.

[4] SONG S, MA X, LI C. Multi-residue determination method of pesticides in leek by gel permeation chromatography and solid phase extraction followed by gas chromatography with mass spectrometric detector[J]. Food Control, 2007, 18(5): 448-453.

[5] 叶宇飞, 许秀琴, 王立君, 等. 气相色谱法测定蔬菜水果中农药残留的基质效应研究[J]. 安徽农学通报, 2015, 21(5): 114-116.
YE Y F, XU X Q, WANG L J, et al. Matrix effect of determination of pesticide residues in vegetables and fruits by gas chromatography[J]. Anhui Agric Sci Bull, 2015, 21(5): 114-116.

[6] NANTIA E A, MORENO-GONZÁLEZ D, MANFO F P, et al. QuEChERS-based method for the determination of carbamate residues in aromatic herbs by UHPLC-MS/MS[J]. Food Chem, 2017, 216: 334-341.

[7] 罗梅梅, 朱晓丹, 贺敏, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法检测韭菜中 4 种杀虫剂残留[J]. 农药, 2014, 53(11): 821-824.
LUO M M, ZHU X D, HE M, et al. Determination of 4 insecticides residues in leek by ultr performance liquid chromatography-mass spectrometry[J]. Pesticides, 2014, 53(11): 821-824.

[8] DU X D, WU Y L, YANG H J, et al. Simultaneous determination of 10 β2-agonists in swine urine using liquid chromatography-tandem mass spectrometry and multi-walled carbon nanotubes as a reversed dispersive solid phase extraction sorbent[J]. J Chromatogr A, 2012, 1260: 25-32.

[9] 向平, 沈敏, 卓先义. 液相色谱-质谱分析中的基质效应[J]. 分析测试学报, 2009, 28(6): 753-756.
XIANG P, SHEN M, ZHUO X Y. Matrix effects in liquid chromatographic-mass spectrometric analysis[J]. J Instrum Anal, 2009, 28(6): 753-756.

[10] 农药残留试验准则: NY/T 788—2018[S]. 北京: 中国农业出版社, 2018.
Standard for pesticide residue test: NY/T 788—2018[S]. Beijing: China Agricultural Press, 2018.

[11] 食品中农药最大残留限量: GB 2763—2019[S]. 农业农村部, 2019.
Maximum residue limits of pesticides in food: GB 2763—2019[S]. Ministry of Agriculture and Rural Affairs, 2019.

(责任编辑: 曲来娥)