

MPFC-QuEChERS 结合超高效液相色谱串联质谱法快速测定铁皮石斛中 56 种农药残留

Rapid determination of 56 pesticide residues in *Dendrobium officinale* by MPFC-QuEChERS method combined with ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry

李占彬¹ 赵丽君² 黄永桥³ 王雪¹ 陆洋¹

LI Zhan-bin¹ ZHAO Li-jun² HUANG Yong-qiao³ WANG Xue¹ LU Yang¹

(1. 贵州省分析测试研究院, 贵州 贵阳 550014; 2. 贵州省装备制造职业学院,

贵州 贵阳 550081; 3. 贵州省检测技术研究应用中心, 贵州 贵阳 550014)

(1. Guizhou Academy of Testing Analysis, Guiyang, Guizhou 550014, China; 2. Guizhou Equipment Manufacturing Vocational College, Guiyang, Guizhou 550081, China; 3. Guizhou Testing Technology Research and Application Center, Guiyang, Guizhou 550014, China)

摘要:目的:对铁皮石斛的农药残留量进行风险分析与评估。方法:建立了超滤型净化分散固相萃取(MPFC-QuEChERS)结合超高效液相色谱—串联质谱法快速测定铁皮石斛中 56 种农药残留的分析方法。样品经 0.1% 甲酸—乙腈溶液提取, QuEChERS 盐析包分层, 经超滤净化柱单步净化, 采用电喷雾正负离子切换(ESI), 动态多反应监测(DMRM)模式进行分析, 基质外标法定量。结果:56 种农药残留量在 1.0~250.0 $\mu\text{g/L}$ 线性范围内线性关系良好($R^2 > 0.99$)。方法的检出限(LOD)为 1~5 $\mu\text{g/kg}$, 定量限(LOQ)为 3.0~15.0 $\mu\text{g/kg}$ 。56 种农药残留量在各自定量限 1, 2, 10 倍加标水平下, 平均回收率为 75.1%~107.0%, 相对标准偏差(RSD)为 2.7%~18.9%。采用该方法对 20 批次铁皮石斛中农药残留进行检测, 结果显示, 5 份样品中检出烯酰吗啉、啉菌酯、腈苯唑、丙环唑、苯醚甲环唑、啉菌酯 6 种农药, 含量范围在 0.066 7~1.872 mg/kg 。结论:超滤型净化 QuEChERS 结合超高效液相色谱—串联质谱法测定农药残留具有前处理简单、快速高效等优点, 可用于铁皮石斛中多种农药残留快速筛查和分析。

关键词:超滤型净化;超高效液相色谱串联质谱;铁皮石斛;农药残留

Abstract: Objective: In order to analyze the risk of pesticide residues in *D. officinale*, a method for rapid determination of 56 pesticide residues in *D. officinale* by a kind of ultrafiltration purification column (MPFC-QuEChERS) combined with ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UHPLC-MS/MS) was developed. **Methods:** The samples were extracted with acetonitrile contained 0.1% formic acid, salted out, shaken, centrifuged, and single-step purified by a MPFC-QuEChERS purification column. Mass spectrometer was operated in the positive and negative ion mode using select reaction monitoring for qualitative and quantitative analysis. **Results:** The result showed that, the 56 kinds of pesticides showed good linearity when they were in 1.0~250.0 $\mu\text{g/L}$ ($R^2 > 0.99$). The limits of detection (LOD) was 1~5 $\mu\text{g/kg}$. Three levels of 1, 2 and 10 times of LOQ were added to the sample, the average recovery of each substance in *D. officinale* was 75.1% to 107.0%, of which the RSDs were 2.7%~18.9%. **Conclusion:** This method was used to detect pesticide residues in 20 batches of *D. officinale*. The results showed that 6 kinds of pesticides were detected in 5 samples with the contents ranging from 0.066 7 mg/kg to 1.872 mg/kg . The method is simple, fast and efficient, and could be used for rapid screening and analysis of pesticide residues in *D. officinale*.

Keywords: MPFC-QuEChERS; ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry; *Dendrobium officinale*; pesticide residues

基金项目:贵州省科技支撑计划项目(编号:黔科合服企[2021]6号);中央引导地方科技发展资金(编号:黔科中引地[2021]4026);贵州省科技创新平台(编号:黔科合服企[2019]4001)

作者简介:李占彬,男,贵州省分析测试研究院副研究员,博士。

通信作者:陆洋(1969—),男,贵州省分析测试研究院研究员,硕士。E-mail: luyang98@163.com

收稿日期:2022-11-04 **改回日期:**2023-04-27

铁皮石斛作为一种药食两用的特殊食材,有很高的药用价值和保健功效^[1-2]。因野生铁皮石斛比较少,市场上主要为人工种植,为保证其产量难免在种植过程中使用防病虫害及除杂草的农药。不规范施用或者滥用农药,会导致农药残留,直接影响铁皮石斛及其产品的质量^[3]。

铁皮石斛中富含有机酸、生物碱、色素、糖苷类等物质,在检测铁皮石斛中农药残留时,会对检测目标物产生很大干扰。目前,铁皮石斛中农药残留的分析方法主要有气相色谱法(GC)^[4-5]、气相色谱质谱法(GC-MS)^[6-7]、气相色谱串联质谱法(GC-MS/MS)^[8-9]和液相色谱串联质谱法(HPLC-MS/MS)^[10-11]。已报道的石斛农药残留检测方法中,大多同时检测农药种类不多,前处理方法集中在固相萃取(SPE)、分散固相萃取(DSPE)^[12]。也有 QuEChERS 的前处理方法的报道。QuEChERS 前处理方法相对于固相萃取和分散固相萃取方法,具有可分析的农药范围广,分析速度快,溶剂使用量少,操作简便等特点。而超滤型净化柱净化方法(MPFC-QuEChERS)是基于 QuEChERS 改进并优化,填充多壁碳纳米管、乙二胺-*N*-丙基硅烷、C₁₈ 和无水硫酸镁等净化材料,特别对有机酸类、部分糖类、生物碱、色素等有很好的去除效果。但应用 MPFC-QuEChERS 方法对铁皮石斛中多农药残留同时快速检测未见报道。

研究拟采用 MPFC-QuEChERS 结合超高效液相色谱-质谱联用仪分析技术,结合 2020 版《中国药典》农药残留量测定方法中规定农药残留的种类,并考虑其他应用范围比较广的农药,确定同时测定铁皮石斛中农药残留的种类。通过前处理条件、色谱质谱参数等优化,建立铁皮石斛中 56 种农药残留同时检测方法,以期对铁皮石斛的农药残留监控及风险分析提供技术支持。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

甲醇、乙腈:色谱纯,德国默克公司;

甲酸:色谱纯,天津科密欧化学试剂有限公司;

盐包:6 g MgSO₄, 1.5 g NaAc,北京绿绵科技有限公司;

MPFC-QuEChERS 超滤净化柱:填料多壁碳纳米管(MWCNTs)、乙二胺-*N*-丙基硅烷(PSA)、C₁₈ 和无水硫酸镁,规格 3 mL,北京绿绵科技有限公司;

ZORBAX Eclipse Plus-C₁₈ 反相色谱柱(100 mm×2.1 mm,1.8 μm):美国安捷伦科技公司;

56 种农药残留标准品(氧乐果、涕灭威亚砷、涕灭威砷、灭多威、久效磷、甲基硫环磷、噻虫嗪、抗蚜威、吡虫啉、乐果、氯噻啉、啉虫脒、硫环磷、噻虫磷、涕灭威、克百威、甲萘威、粉唑醇、三唑醇、多效唑、烯酰吗啉、咪唑胺、杀扑磷、苯线磷、腈菌唑、啉菌酯、氟硅唑、腈苯唑、己唑醇、联苯三唑醇、马拉硫磷、三唑磷、丙环唑、氯唑磷、氟虫

腈、苯醚甲环唑、啉菌酯、氟甲腈、噻嗪酮、硫线磷、二嗪磷、甲基嘧啶磷、甲基异柳磷、地虫硫磷、氟虫腈砷、氟虫腈亚砷、治螟磷、甲拌磷、伏杀硫磷、丙溴磷、茚虫威、茚菌酯、啉虫酰胺、二甲戊灵、啉啉灵、螺螨酯);标准值为 100 mg/L,农业部环境保护科研监测所;

铁皮石斛:贵州威门药业股份有限公司;

0.22 μm 有机滤膜:上海安谱实验科技股份有限公司;

超高效液相色谱仪:Agilent 1290 型,美国安捷伦科技有限公司;

三重四极杆串联质谱:Agilent 6470 QQQ 型,电喷雾离子源,美国安捷伦科技有限公司;

刀式研磨粉碎仪号:GM200 型,德国莱驰公司;

电子天平:LT2002 型,常熟市天量仪器有限公司;

离心机:L-550 型,湖南湘仪离心机仪器有限公司;

涡旋混合器:XW-80A 型,上海米青科实业有限公司;

超纯水机:Milli-Q Integral 15 型,美国 Millipore 公司。

1.2 试验方法

1.2.1 样品前处理 铁皮石斛样品经烘干粉碎,过 40 目筛,存放于密封样品瓶中备用。称取 2 g(精确到 0.01 g)已制备的样品至 50 mL 具塞离心管内,加入 10.0 mL 超纯水,混匀,涡旋 2 min,静置 10 min,加入 1 颗陶瓷均质子,加入 10.0 mL 0.1% 甲酸-乙腈溶液,混匀,涡旋 2 min,静置 10 min。加入含有 6 g 无水硫酸镁、1.5 g 无水醋酸钠的盐包,剧烈振荡,涡旋振荡 2 min,4 000 r/min 离心 5 min。准确吸取 1.0 mL 上清液,从 MPFC-QuEChERS(复杂基质)超滤净化柱顶部加入,缓慢推动柱塞杆,使上清液缓慢通过净化材料,即净化完成。净化液全部通过 0.22 μm 有机滤膜过滤至进样瓶,供 UHPLC-MS/MS 测定。

1.2.2 基质标准溶液配制

(1) 混合标准工作液:将 56 种农药残留标准溶液(100 mg/L)用色谱纯乙腈配制成 1.0 mg/L 的混合标准溶液,并用逐级稀释配制成 1.0,2.0,5.0,10.0,20.0,50.0,100.0,250.0 μg/L 混合标准工作液,现配现用。

(2) 基质标准工作液:将空白样品按照 1.2.1 样品前处理方法提取基质配标溶液,配制 1.0,2.0,5.0,10.0,20.0,50.0,100.0,250.0 μg/L 基质标准工作液,临用现配。

1.2.3 仪器条件

(1) 液相色谱条件:ZORBAX Eclipse Plus-C₁₈ 反相色谱柱(100 mm×2.1 mm,1.8 μm),流动相 A 为 0.1% 甲酸水溶液,流动相 B 为乙腈,流速 0.3 mL/min,柱温箱温度 40 °C,进样体积 2.0 μL,梯度洗脱程序见表 1。

表 1 梯度洗脱程序

Table 1 Gradient elution procedure

时间/min	流速/(mL·min ⁻¹)	流动相 A/%	流动相 B/%
0.00	0.30	95	5
0.50	0.30	95	5
3.00	0.30	80	20
7.00	0.30	40	60
13.00	0.30	2	98
14.00	0.30	2	98
14.50	0.30	95	5
16.00	0.30	95	5

(2) 质谱条件:电喷雾离子源(±ESI),动态多反应监测模式(DMRM),干燥气流速 10 L/min,毛细管电压 4.0 kV,雾化器压力 2.7×10^5 Pa,干燥气温度 300 ℃,鞘气温度 325 ℃,鞘气流速 11 L/min,其他质谱条件见表 2。

1.3 数据处理

采用液相色谱—质谱联用仪配备 Agilent MassHunter 工作站建立方法、数据采集、数据定量处理。Excle 2010 进行数据整理、分析。

2 结果与分析

2.1 仪器参数的优化

2.1.1 色谱条件优化 流动相对目标物的分离和灵敏度

表 2 56 种农药残留质谱条件⁺

Table 2 Mass spectrometry of 56 pesticide residues

化合物	保留时间/min	母离子(<i>m/z</i>)	碎片离子(<i>m/z</i>)	去簇电压/V	碰撞能量/eV
氧乐果	1.74	214.1(+)	183.0/125.0 *	80	5/25
涕灭威亚砷	2.11	207.0(+)	132.0/89.0 *	90	10/10
涕灭威砷	2.71	223.1(+)	148.1/86.1 *	80	5/10
灭多威	2.90	163.1(+)	106.3/88.1 *	50	10/10
久效磷	3.04	224.0(+)	193.0 * /127.0	100	5/20
甲基硫环磷	3.29	227.8(+)	168.0 * /109.0	90	15/25
噻虫嗪	3.52	292.0(+)	210.8 * /180.9	90	15/15
抗蚜威	3.78	238.9(+)	182.1/72.1 *	90	15/15
吡虫啉	4.28	256.2(+)	175.2 * /208.0	95	15/15
乐果	4.40	230.0(+)	199.0 * /171.0	80	5/10
氯噻啉	4.47	262.0(+)	181.0/122.0	80	20/20
啶虫脒	4.59	223.5(+)	126.1 * /56.1	100	15/15
硫环磷	4.86	256.0(+)	228.0/140.0 *	100	25/10
噻虫磷	5.16	253.1(+)	186.1/126.1 *	90	25/15
涕灭威	5.19	213.1(+)	116.2/89.2 *	80	5/20
克百威	6.05	222.2(+)	165.2 * /123.2	80	5/10
甲萘威	6.29	202.1(+)	145.2 * /127.2	60	20/20
粉唑醇	6.33	302.1(+)	123.0 * /109.0	100	10/10
三唑醇	7.11	296.2(+)	99.2/70.2 *	70	10/10
多效唑	7.12	294.2(+)	125.0/70.0 *	90	20/10
烯酰吗啉	7.13	388.3(+)	301.2 * /165.1	120	25/30
咪酰胺	7.30	376.0(+)	308.0 * /266.0	80	10/10
杀扑磷	7.34	303.0(+)	145.0 * /85.0	80	5/10
苯线磷	7.51	303.9(+)	233.9 * /217.0	95	15/15
腈菌唑	7.55	289.1(+)	124.8/69.8 *	100	20/20
嘧菌酯	7.60	404.0(+)	372.0 * /344.0	120	10/15
氟硅唑	7.86	316.1(+)	247.1 * /165.1	90	10/10
腈苯唑	7.94	337.1(+)	124.8/69.8 *	100	20/20
己唑醇	7.95	313.8(+)	158.6/70.0 *	100	15/15
联苯三唑醇	8.01	338.0(+)	269.1/70.0 *	90	10/10
马拉硫磷	8.04	331.0(+)	127.0 * /99.0	80	5/10
三唑磷	8.08	314.1(+)	286.0/162.0 *	120	20/10
丙环唑	8.18	342.1(+)	205.1/1559.1 *	100	20/20

续表 2

化合物	保留时间/min	母离子(<i>m/z</i>)	碎片离子(<i>m/z</i>)	去簇电压/V	碰撞能量/eV
氯唑磷	8.40	314.1(+)	162.0 [*] /120.0	100	10/20
氟虫腈	8.52	434.9(-)	329.8 [*] /249.8	90	15/30
苯醚甲环唑	8.54	406.2(+)	337.2/251.1 [*]	100	15/20
啉氧菌酯	8.61	368.2(+)	205.2 [*] /145.1	100	10/10
氟甲腈	8.72	386.9(-)	350.8 [*] /281.8	100	10/30
噻嗪酮	8.73	306.0(+)	201.0 [*] /116.0	120	10/15
硫线磷	8.80	271.1(+)	159.1 [*] /97.0	100	20/20
二嗪磷	8.87	305.1(+)	169.0 [*] /153.0	140	20/20
甲基嘧啶磷	8.90	306.2(+)	164.0/108.0 [*]	120	30/30
甲基异柳磷	8.93	354.1(+)	312.0/253.0 [*]	120	20/15
地虫硫磷	9.02	247.1(+)	137.1/109.1 [*]	80	5/15
氟虫腈砒	9.06	450.9(-)	282.8 [*] /243.8	125	30/30
氟虫腈亚砒	9.06	418.9(-)	382.8/261.8 [*]	125	30/30
治螟磷	9.08	323.0(+)	171.0 [*] /143.0	120	10/20
甲拌磷	9.16	261.0(+)	199.0/75.0 [*]	70	5/10
伏杀硫磷	9.18	368.0(+)	322.0/182.0 [*]	80	10/10
丙溴磷	9.37	303.9(+)	233.9 [*] /217.0	95	15/15
茚虫威	9.38	528.0(+)	249.0/218.0 [*]	120	20/20
肟菌酯	9.45	409.3(+)	206.2/186.1 [*]	100	10/10
唑虫酰胺	9.63	384.1(+)	197.1 [*] /145.1	110	20/20
二甲戊灵	10.27	282.3(+)	212.2 [*] /194.2	80	5/15
哒螨灵	11.17	365.3(+)	309.2 [*] /147.2	95	10/20
螺螨酯	11.31	411.1(+)	313.1/71.0 [*]	100	20/20

† * 为定量离子。

有很大的影响,需对流动相进行考察。基于农药残留的特性及同时满足 56 种不同农药的同时测定,考察了水相中加入乙酸铵、甲酸对目标物离子化效率和灵敏度的影响。结果表明,体积分数为 0.1%的甲酸溶液对目标物的分析灵敏度较好。其次,考察以甲醇和乙腈为有机流动相,结果表明乙腈作为有机流动相对目标物的分离度较好。因此,选用乙腈和甲酸溶液(0.1%)为流动相。采用梯度洗脱程序,16 min 内完成检测,梯度洗脱程序见表 1。

2.1.2 质谱条件选择 对 56 种农药残留进行质谱条件优化,采用正负离子模式同时监测,一级质谱全扫描,并优化去簇电压得到相应目标物的准分子离子峰。选用准分子离子峰为母离子进行二次碰撞,选择特征碎片离子中基线噪声低、响应值高、干扰小的两对离子为子离子。通过优化毛细管电压、雾化器压力、碰撞能量、去簇电压、干燥温度和鞘气温度及压力等质谱参数,优化目标物的响应值达到最大。最终确立各目标物的出峰时间,采用动态多反应监测(DMRM)扫描方式确保各目标物有充分采集时间,经优化后的 56 种农药残留质谱条件,检测色谱图见图 1。

2.2 前处理优化

2.2.1 提取净化条件的选择 由于涵盖的农药较多且极性范围较广,因此在提取和净化时需要充分考虑各化合物的性质。其中氨基甲酸酯类农药对 pH 值较敏感,在酸性条件下较稳定,碱性条件下容易分解,因此需要在酸性条件下进行提取净化。由于乙腈有机磷、有机氯、拟除虫菊酯及氨基甲酸酯类农药有很好的提取效果,且对油

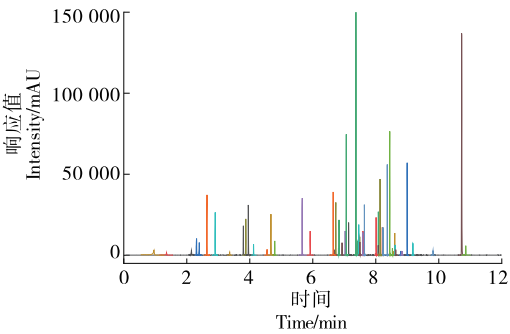


图 1 基质标准工作溶液的 DMRM 色谱图
Figure 1 Chromatograms of MRM of pesticides in matrix standard solution

脂和色素的提取量较少^[13]。因此,考察乙腈和含 0.1%甲酸乙腈溶液对 56 种农药残留回收率的影响。结果表明,选用乙腈时,56 种农药残留的回收率为 50%~105%。选用 0.1%甲酸乙腈溶液时,56 种农药残留的回收率为 70%~120%。因此,选择提取溶剂为 0.1%甲酸乙腈溶液。

铁皮石斛样品为干粉末状,在 QuEChERS 方法提取时,需要样品中保持一定的水分,能提高样品中目标物的提取效率。但加入水量过多也会导致水溶性色素等基质的溶出增加。因此,比较了加入 0.0,5.0,10.0 mL 水对目标物回收率的影响。结果表明,加入 10.0 mL 水的 56 种农药残留的平均回收率(75%~105%)高于其余两组(60%~85%,73%~89%)。因此,后续试验净化时加入

10.0 mL 超纯水。

2.2.2 基质效应 采用 1.2.2 基质匹配和纯溶剂仪器绘制标准曲线,基质效应(ME)计算公式:

$$M_E = \left(\frac{A}{B} - 1\right) \times 100\%, \tag{1}$$

式中:

M_E ——基质效应,%;

A ——基质匹配标准曲线斜率;

B ——纯溶剂标准曲线斜率。

通常, $|M_E| \leq 10\%$ 时,ME 可忽略不计; $|M_E|$ 为 10%~20%时,较弱的基质干扰; $|M_E| \geq 20\%$ 时,强基质干扰。56 种农药残留在铁皮石斛检测中的基质效应见表 3。

表 3 56 种农药残留基质效应
Table 3 Matrix effects (ME) of 56 pesticide residues

目标物	溶剂标准 曲线斜率	铁皮石斛		目标物	溶剂标准 曲线斜率	铁皮石斛	
		基质标准溶 液曲线斜率	ME/%			基质标准溶 液曲线斜率	ME/%
氧乐果	1 952.42	1 825.88	-6.5	己唑醇	88 822.93	64 893.04	-26.9
涕灭威亚砷	665.82	585.42	-12.1	联苯三唑醇	3 107.64	1 956.29	-37.0
涕灭威砷	1 702.19	1 534.63	-9.8	马拉硫磷	4 078.90	3 590.98	-12.0
灭多威	6 929.91	5 073.89	-26.8	三唑磷	23 654.90	19 363.71	-18.1
久效磷	5 804.60	4 325.51	-25.5	丙环唑	5 886.00	3 637.61	-38.2
甲基硫环磷	22 934.18	18 282.88	-20.3	氯唑磷	10 280.93	9 475.29	-7.8
噻虫嗪	2 867.71	1 301.07	-54.6	氟虫腈	383.83	398.21	3.7
抗蚜威	1 303.12	1 163.43	-10.7	苯醚甲环唑	11 165.30	5 673.64	-49.2
吡虫啉	1 382.47	895.11	-35.3	啉氧菌酯	5 484.52	3 474.52	-36.6
乐果	8 305.52	2 944.09	-64.6	氟甲腈	882.06	799.84	-9.3
氯噻啉	2 190.82	637.74	-70.9	噻嗪酮	18 988.47	19 105.68	0.6
啉虫脒	2 365.45	779.92	-67.0	硫线磷	6 262.51	5 516.22	-11.9
硫环磷	1 025.43	706.89	-31.1	二嗪磷	26 935.66	26 052.65	-3.3
噻虫磷	8 712.07	3 674.53	-57.8	甲基嘧啶磷	21 072.98	20 424.52	-3.1
涕灭威	591.68	512.34	-13.4	甲基异柳磷	326.22	325.43	-0.2
克百威	10 980.30	8 602.01	-21.7	地虫硫磷	800.36	554.98	-30.7
甲萘威	4 797.54	2 011.26	-58.1	氟虫腈砷	1 401.42	1 167.85	-16.7
粉唑醇	369.46	171.60	-53.6	氟虫腈亚砷	391.62	377.59	-3.6
三唑醇	14 182.72	10 029.68	-29.3	治螟磷	1 261.11	1 469.00	16.5
多效唑	10 143.42	6 725.60	-33.7	甲拌磷	4 592.21	472.27	-89.7
烯酰吗啉	6 798.13	4 986.11	-26.7	伏杀硫磷	1 002.85	438.46	-56.3
咪酰胺	16 047.41	371.78	-97.7	丙溴磷	898.39	549.27	-38.9
杀扑磷	2 627.34	1 708.71	-35.0	茚虫威	825.56	576.30	-30.2
苯线磷	4 993.98	7 585.94	51.9	茚菌酯	19 403.00	19 761.61	1.8
腈菌唑	6 243.78	5 370.90	-14.0	唑虫酰胺	2 814.23	1 130.56	-59.8
啉菌酯	23 184.53	18 657.80	-19.5	二甲戊灵	1 081.68	823.63	-23.9
氟硅唑	3 518.96	191.56	-94.6	哒螨灵	47 241.33	45 817.52	-3.0
腈苯唑	3 982.85	3 169.43	-20.4	螺螨酯	1 507.23	1 232.78	-18.2

试验结果表明,有 32 种农药残留的 $|M_E|>20\%$,说明这 32 种农药残留具有较强的基质干扰。因此,在定量分析中使用基质匹配标准曲线。

2.3 方法学验证

依据 GB/T 5009.1—2003《食品卫生检验方法 理化部分 总则》附录 A 中的检验方法技术参数及数据处理要求,采用空白样品基质液配制系列标准工作溶液,以各组分的峰面积(y)对质量浓度(x)绘制标准曲线。56 种

农药残留组分在合适的线性范围内线性关系良好,相关系数 $R^2>0.99$ 。在空白样品中添加目标物标准溶液,以 3 倍信噪比($S/N=3$)对应的农药残留浓度为方法检出限(LOD),10 倍信噪比($S/N=10$)对应的农药残留浓度为检测方法的定量限(LOQ);空白样品添加标准溶液,按照 1.2.1 前处理方法处理样品,并进行回收率测定并计算。3 个添加目标物水平按各自定量限的 1,2,10 倍添加,每个添加水平重复 6 次,结果见表 4。

表 4 56 种农药残留的线性方程、相关系数、检出限、定量限、回收率及相对标准偏差

Table 4 Linear equation, correlation coefficient, limit of detection(LOD), limit of quantification(LOQ), recoveries and standard deviations of 56 pesticide residues ($n=6$)

化合物	线性范围/ ($\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)	线性方程	R^2	检出限/ ($\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)	定量限/ ($\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)	添加 1 倍定量限		添加 2 倍定量限		添加 10 倍定量限	
						回收率/ %	RSD/ %	回收率/ %	RSD/ %	回收率/ %	RSD/ %
氧乐果	1.0~50.0	$y=1\ 825.88x-202.45$	0.996	1.0	3.0	94.3	6.4	96.2	18.9	96.1	4.1
涕灭威亚砷	1.0~50.0	$y=585.42x+97.20$	0.990	1.0	3.0	80.6	7.0	87.9	7.9	90.7	7.7
涕灭威砷	1.0~50.0	$y=1\ 534.63x-53.97$	0.996	1.0	3.0	76.6	7.0	88.6	9.5	89.5	4.9
灭多威	1.0~50.0	$y=5\ 073.89x+573.40$	0.999	1.0	3.0	84.8	9.9	94.5	5.9	99.2	4.3
久效磷	1.0~50.0	$y=4\ 325.51x+54.87$	0.999	1.0	3.0	79.0	12.7	85.0	8.2	86.6	4.8
甲基硫环磷	1.0~50.0	$y=18\ 282.88x+86.82$	0.997	1.0	3.0	79.9	5.9	87.0	7.2	96.9	3.1
噻虫嗪	5.0~250.0	$y=1\ 301.07x+18\ 187.77$	0.993	5.0	15.0	88.1	4.6	84.8	5.7	94.7	4.3
抗蚜威	1.0~50.0	$y=1\ 163.43x-57.83$	0.996	1.0	3.0	94.9	6.2	89.8	4.2	97.8	5.1
吡虫啉	5.0~250.0	$y=895.11x+13\ 266.08$	0.998	5.0	15.0	84.3	10.6	91.1	9.9	101.6	9.8
乐果	1.0~50.0	$y=2\ 944.09x+44.43$	0.998	1.0	3.0	85.0	8.8	99.9	2.7	94.1	8.9
氯噻啉	5.0~250.0	$y=637.74x+11.38$	0.996	5.0	15.0	104.7	7.1	98.5	8.8	95.0	8.2
啶虫脒	1.0~50.0	$y=779.92x+766.48$	0.994	1.0	3.0	78.0	10.6	89.9	7.6	93.9	6.9
硫环磷	1.0~50.0	$y=706.89x-58.29$	0.997	1.0	3.0	84.2	12.9	96.4	7.7	102.9	4.4
噻虫磷	1.0~50.0	$y=3\ 674.53x-76.04$	0.994	1.0	3.0	95.8	3.6	97.9	3.3	86.5	5.6
涕灭威	5.0~250.0	$y=512.34x+246.87$	0.999	5.0	15.0	83.7	8.1	91.1	5.4	94.2	9.3
克百威	1.0~50.0	$y=8\ 602.01x+16\ 255.56$	0.991	1.0	3.0	93.7	11.9	82.0	6.1	92.3	4.6
甲萘威	1.0~50.0	$y=2\ 011.26x+2\ 055.83$	0.994	1.0	3.0	83.8	7.6	88.8	7.2	101.7	5.8
粉唑醇	5.0~250.0	$y=171.60x-8.14$	0.999	5.0	15.0	96.8	10.1	98.6	7.5	94.8	7.6
三唑醇	1.0~50.0	$y=10\ 029.68x+1\ 989.82$	0.998	1.0	3.0	82.7	11.0	96.2	6.8	93.0	2.7
多效唑	1.0~50.0	$y=6\ 725.60x+5\ 691.47$	0.991	1.0	3.0	86.9	11.0	91.2	7.2	90.3	4.7
烯酰吗啉	1.0~50.0	$y=4\ 986.11x+560.76$	0.995	1.0	3.0	84.9	8.5	88.5	5.9	90.3	3.9
咪酰胺	1.0~50.0	$y=371.78x+1\ 854.91$	0.991	1.0	3.0	79.8	9.5	85.9	6.5	106.3	7.7
杀扑磷	1.0~50.0	$y=1\ 708.71x+47.10$	0.996	1.0	3.0	83.2	14.0	88.0	10.1	94.7	6.4
苯线磷	1.0~50.0	$y=7\ 585.94x-205.32$	0.999	1.0	3.0	85.9	11.9	94.5	4.2	94.4	5.3
腈菌唑	1.0~50.0	$y=5\ 370.90x+4\ 995.32$	0.996	1.0	3.0	78.9	10.5	94.3	5.9	91.1	4.7
嘧菌酯	1.0~50.0	$y=18\ 657.80x+217.68$	0.998	1.0	3.0	85.9	9.2	90.0	6.3	93.3	3.8
氟硅唑	1.0~50.0	$y=191.56x+524.63$	0.996	1.0	3.0	83.9	10.0	90.9	8.8	93.7	6.9
腈苯唑	1.0~50.0	$y=3\ 169.43x-74.05$	0.993	1.0	3.0	83.9	9.1	89.5	5.8	91.3	3.9
己唑醇	1.0~50.0	$y=64\ 893.04x+1\ 094.62$	0.997	1.0	3.0	83.5	9.8	86.1	3.9	95.9	5.4
联苯三唑醇	1.0~50.0	$y=1\ 956.29x+3\ 541.11$	0.994	1.0	3.0	83.7	12.4	87.6	5.6	91.1	10.5
马拉硫磷	1.0~50.0	$y=3\ 590.98x+248.09$	0.992	1.0	3.0	79.4	7.7	86.0	6.3	99.0	5.8

续表 4

化合物	线性范围/ ($\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)	线性方程	R^2	检出限/ ($\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)	定量限/ ($\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)	添加 1 倍定量限		添加 2 倍定量限		添加 10 倍定量限	
						回收率/ %	RSD/ %	回收率/ %	RSD/ %	回收率/ %	RSD/ %
三唑磷	1.0~50.0	$y=19\ 363.71x+1\ 383.59$	0.997	1.0	3.0	82.8	7.9	94.9	6.0	97.5	5.9
丙环唑	1.0~50.0	$y=3\ 637.61x-134.31$	0.993	1.0	3.0	81.9	9.3	87.0	6.0	89.3	4.8
氯唑磷	1.0~50.0	$y=9\ 475.29x+1\ 072.05$	0.995	1.0	3.0	84.9	4.6	87.4	4.7	94.3	4.5
氟虫腈	5.0~250.0	$y=398.21x+738.17$	0.995	5.0	15.0	78.5	8.6	75.1	15.4	107.0	6.8
苯醚甲环唑	1.0~50.0	$y=5\ 673.64x-279.46$	0.994	1.0	3.0	75.9	7.2	84.9	6.1	88.3	5.1
啉氧菌酯	1.0~50.0	$y=3\ 474.52x+70\ 853.83$	0.998	1.0	3.0	84.4	9.8	89.1	6.6	86.9	13.0
氟甲腈	1.0~50.0	$y=799.84x+377.15$	0.992	1.0	3.0	76.6	6.4	91.1	4.4	97.1	7.8
噻嗪酮	1.0~50.0	$y=19\ 105.68x+1\ 888.52$	0.998	1.0	3.0	84.3	9.1	94.6	4.2	96.7	5.1
硫线磷	1.0~50.0	$y=5\ 516.22x+664.66$	0.994	1.0	3.0	83.3	9.1	90.3	7.8	97.3	4.6
二嗪磷	1.0~50.0	$y=26\ 052.65x+2\ 722.94$	0.997	1.0	3.0	85.2	9.9	90.5	4.4	99.5	4.8
甲基嘧啶磷	1.0~50.0	$y=20\ 424.52x+119.61$	0.995	1.0	3.0	83.6	7.4	89.9	5.0	95.4	3.9
甲基异柳磷	5.0~250.0	$y=325.43x-72.10$	0.996	5.0	15.0	85.2	13.7	88.9	8.6	81.7	8.9
地虫硫磷	1.0~50.0	$y=554.98x+949.88$	0.995	1.0	3.0	84.8	11.7	81.1	6.7	83.6	10.4
氟虫腈砒	1.0~50.0	$y=1\ 167.85x+1797.67$	0.994	1.0	3.0	84.5	3.6	91.9	3.7	95.7	5.4
氟虫腈亚砒	1.0~50.0	$y=377.59x+112.36$	0.994	1.0	3.0	86.7	7.2	89.1	6.8	91.6	12.4
治螟磷	1.0~50.0	$y=1\ 469.00x+82.28$	0.994	1.0	3.0	80.5	7.5	86.8	8.1	92.0	11.2
甲拌磷	5.0~250.0	$y=472.27x+11.81$	0.994	5.0	15.0	79.1	6.1	84.8	8.0	90.2	8.8
伏杀硫磷	5.0~250.0	$y=438.46x+159.62$	0.998	5.0	15.0	85.0	11.9	96.8	8.2	104.4	7.9
丙溴磷	1.0~50.0	$y=549.27x+23.45$	0.992	1.0	3.0	83.7	10.3	84.6	7.3	89.8	6.1
茚虫威	1.0~50.0	$y=576.30x+46.74$	0.995	1.0	3.0	78.1	5.6	85.0	4.7	96.6	6.6
肟菌酯	1.0~50.0	$y=19\ 761.61x+3\ 809.59$	0.998	1.0	3.0	89.6	6.3	95.1	3.6	95.4	6.2
唑虫酰胺	1.0~50.0	$y=1\ 130.56x+406.16$	0.993	1.0	3.0	86.8	8.4	87.9	5.7	101.9	6.3
二甲戊灵	1.0~50.0	$y=823.63x+285.59$	0.995	1.0	3.0	86.4	8.1	93.2	8.3	96.2	6.4
哒螨灵	1.0~50.0	$y=45\ 817.52x+4\ 825.83$	0.997	1.0	3.0	83.5	3.5	84.4	4.9	96.6	4.7
螺螨酯	1.0~50.0	$y=1\ 232.78x+2\ 285.48$	0.998	1.0	3.0	81.7	11.6	90.2	8.6	94.3	6.3

由表 4 可知,56 种农药残留在质量浓度为 1.0~250.0 $\mu\text{g/L}$ 时线性关系良好($R^2>0.99$)。方法的检出限为 1.0~5.0 $\mu\text{g/kg}$,定量限为 3.0~15.0 $\mu\text{g/kg}$ 。56 种农药残留在各自定量限 1,2,10 倍加标水平下,平均回收率为 75.1%~107.0%,相对标准偏差(RSD)为 2.7%~18.9%。表明建立的多农残同时测定方法具有较好的准确度和精密度。

2.4 实际样品分析

利用建立的方法对市售经中药材专家鉴定为铁皮石斛的 20 批次样品进行测定,有 5 份铁皮石斛样品共检测出 6 种农药残留(见图 2)。检出农药有烯酰吗啉 1.872 mg/kg、嘧菌酯 0.440 mg/kg、腈苯唑 0.129 mg/kg、丙环唑 0.277 mg/kg、苯醚甲环唑 1.556 mg/kg、啉氧菌酯 0.066 7 mg/k;在同一个批次石斛样品中同时检出的农药

为腈苯唑和苯醚甲环唑。检出的农药中嘧菌酯、腈苯唑、丙环唑、苯醚甲环唑为 2020 版《中国药典》第四部通则规定检测的指标,且均超过该方法的定量限。

3 结论

研究基于 MPFC-QuEChERS 的前处理方法,建立了超高效液相色谱—串联质谱法快速测定铁皮石斛中 56 种农药残留的检测方法。通过改进的 QuEChERS 前处理方法,实现了多农药残留同时提取净化。采用基质配制标准曲线定量分析有效保证定量的准确度,56 种农药残留在铁皮石斛中的回收率为 75.1%~107.0%。对 20 份铁皮石斛样品中 56 种农药残留检测,其中 5 份铁皮石斛样品检测出 6 种农药残留,得到较好的结果。应用 PFC-QuEChERS(复杂基质)超滤净化柱单步净化去除有机酸、生物碱、色素、糖类等干扰物质,简化了前处理步骤,

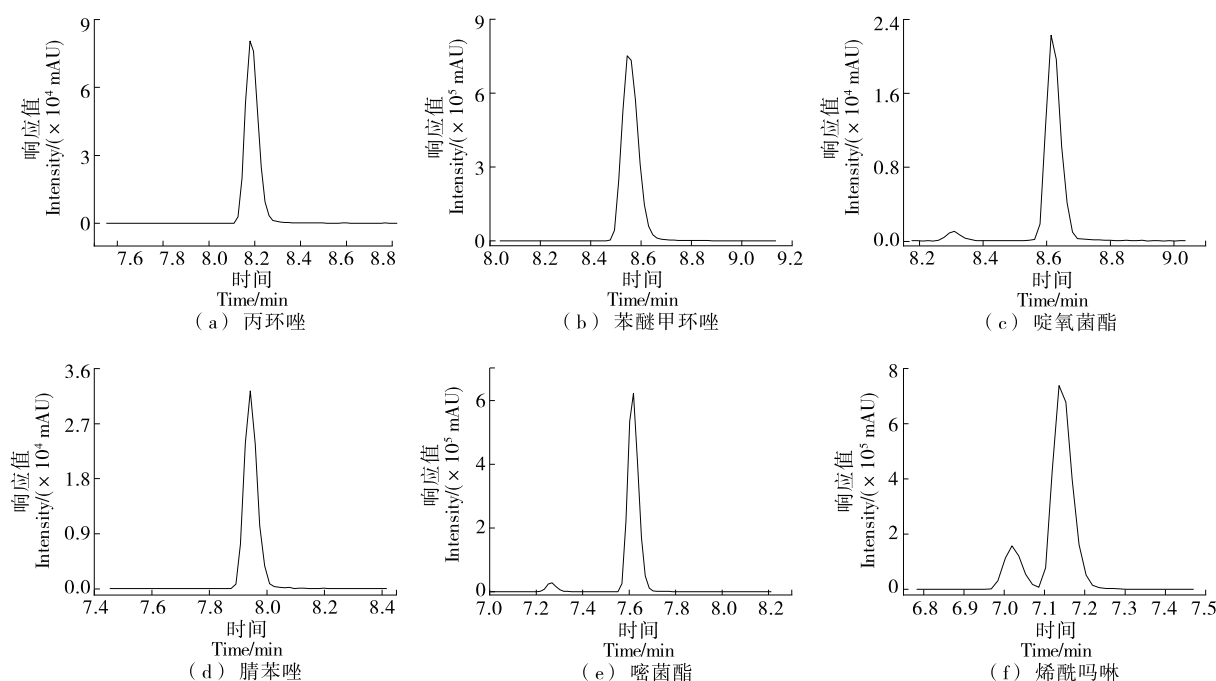


图2 铁皮石斛中检出项目 MRM 色谱图

Figure 2 Chromatograms of MRM of some pesticides in *D. officinale*

并有效提高了净化效率。通过方法学验证,能够满足铁皮石斛中多农药残留的快速筛查的需求。

参考文献

- [1] 王治丹, 代云飞, 罗尚娟, 等. 铁皮石斛化学成分及药理作用的研究进展[J]. 华西药学杂志, 2022, 37(4): 472-476.
WANG Z D, DAI Y F, LUO S J, et al. Research progress on chemical constituents and pharmacological effects of *Dendrobium officinale*[J]. West China Journal of Pharmaceutical Sciences, 2022, 37(4): 472-476.
- [2] 唐靖雯, 彭政忠, 卢礼平, 等. 贵州铁皮石斛叶的质量及安全评价研究[J]. 贵州中医药大学学报, 2022, 44(4): 21-25.
TANG J W, PENG Z Z, LU L P, et al. Study on quality and safety evaluation of *Dendrobium officinale* leaves from Guizhou [J]. Journal of Guizhou University of Traditional Chinese Medicine, 2022, 44(4): 21-25.
- [3] 杨婉珍, 康传志, 纪瑞锋, 等. 中药材残留农药情况分析及其标准研制的思考[J]. 中国中药杂志, 2017, 42(12): 2 284-2 290.
YANG W Z, KANG C Z, JI R F, et al. Situation analysis and standard formulation of pesticide residues in traditional Chinese medicines[J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2017, 42(12): 2 284-2 290.
- [4] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 四部[S]. 2015 版. 北京: 中国医药科技出版社, 2015.
Chinese Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the people's republic of China: Part IV[S]. 2015 Edition. Beijing: China Pharmaceutical Science and Technology Press, 2015.
- [5] 范丽丽, 王娟, 吴加伦. 气相色谱法测定铁皮石斛、浙贝母和人参中啉氧菌酯残留[J]. 分析科学学报, 2017, 33(2): 222-226.
FAN L L, WANG J, WU J L. Determination of azoxystrobin residues in *Dendrobium officinale*, *Fritillariae thumbergii* and *Panax ginseng* by gas chromatography[J]. Journal of Analytical Science, 2017, 33(2): 222-226.
- [6] 郝经文, 徐文冬, 石敏珠, 等. GC-MS 同时测定霍山石斛及霍山产铁皮石斛中拟除虫菊酯和氨基甲酸酯类 16 种农药残留的检测方法[J]. 食品工业科技, 2019, 40(9): 230-234.
HAO J W, XU W D, ZHI M Z, et al. Simultaneous determination of 16 kinds of pyrethroid and carbamate pesticide residues in *Dendrobium huoshanense* and *Dendrobium officinale* from Huoshan by GC-MS[J]. Science and Technology of Food Industry, 2019, 40(9): 230-234.
- [7] 聂静苑. 固相萃取-GC-MS 法检测铁皮石斛药材中的 5 种常见农药残留[J]. 食品与药品, 2018, 20(6): 422-425.
NIE J Y. Determination of 5 common pesticide residues in *Dendrobium officinale* by SPE-GC-MS[J]. Food and Drug, 2018, 20(6): 422-425.
- [8] 张权, 毕珊, 吴玉田, 等. Sin-QuEChERS Nano 净化柱结合气相色谱—串联质谱法快速筛查石斛中 84 种农药残留[J]. 色谱, 2022, 40(6): 565-575.
ZHANG Q, BI S, WU Y T, et al. Rapid screening of 84 pesticide residues in *polygonum capitatum* by SinQuEChERS Nano purification column with gas chromatography-tandem mass spectrometry[J]. Chinese Journal of Chromatography, 2022, 40(6): 565-575.

(下转第 84 页)

- [8] CHOWDHURY S, MANDAL B K, ROY R. A review on energy and exergy analysis of two-stage vapour compression refrigeration system [J]. International Journal of Air-Conditioning and Refrigeration, 2019, 27(2): 1-9.
- [9] 杨俊兰, 高思雨, 李久东. CO₂跨临界制冷循环系统焓经济分析[J]. 太阳能学报, 2020, 41(1): 60-65.
- YANG L J, GAO S Y, LI J D. Exergoeconomic analysis of CO₂ transcritical refrigeration cycle system[J]. Acta Energiæ Solaris Sinica, 2020, 41(1): 60-65.
- [10] LIU Z, LIU B, GUO J Z, et al. Conventional and advanced exergy analysis of a novel transcritical compressed carbon dioxide energy storage system[J]. Energy Conversion and Management, 2019, 198: 11807.
- [11] MOROSUK T, TSATSARONIS G. Advanced exergetic evaluation of refrigeration machines using different working fluids[J]. Energy, 2009, 34(12): 2 248-2 258.
- [12] TSATSARONIS G, MOROSUK T. Advanced thermodynamic (exergetic) analysis[J]. Journal of Physics: Conference Series, 2012, 395: 012160.
- [13] TSATSARONIS G, KELLY S O, MOROSUK T V, et al. Endogenous and exogenous exergy destruction in thermal systems [C]// American Society of Mechanical Engineers (ASME) International Mechanical Engineering Congress and Exposition. Chicago: [s.n.], 2006: 311-317.
- [14] SARKAR J, JOSHI D. Extended exergy analysis based comparison of subcritical and transcritical refrigeration systems [J]. International Journal of Air-Conditioning and Refrigeration, 2016, 24(2): 1-9.
- [15] MOHAMMADI Z, FALLAH M, MAHMOUDI S M S. Advanced exergy analysis of recompression supercritical CO₂ cycle [J]. Energy, 2019, 178: 631-643.
- [16] 管海清, 马一太, 李敏霞, 等. CO₂跨临界循环热力学对比分析[J]. 流体机械, 2004(6): 39-42.
- GUAN H Q, MA Y T, LI M X, et al. Thermodynamic comparative analysis on CO₂ transcritical cycle[J]. Fluid Machinery, 2004(6): 39-42.
- [17] WANG H L, MA Y T, TIAN J R, et al. Theoretical analysis and experimental research on transcritical CO₂ two stage compression cycle with two gas coolers (TSCC+ TG) and the cycle with intercooler (TSCC+ IC) [J]. Energy Conversion and Management, 2011, 52(8/9): 2 819-2 828.
- [18] GHOLAMIAN E, HANAFIZADEH P, AHMADI P. Advanced exergy analysis of a carbon dioxide ammonia cascade refrigeration system[J]. Applied Thermal Engineering, 2018, 137: 689-699.
- [19] AMINYAVARI M, NAJAFI B, SHIRAZI A, et al. Exergetic, economic and environmental (3E) analyses, and multi-objective optimization of a CO₂/NH₃ cascade refrigeration system [J]. Applied Thermal Engineering, 2014, 65(1/2): 42-50.
- [20] FALLAH M, MAHMOUDI S M S, YARI M, et al. Advanced exergy analysis of the Kalina cycle applied for low temperature enhanced geothermal system [J]. Energy Conversion and Management, 2016, 108: 190-201.
- [21] MOROSUK T, TSATSARONIS G. A new approach to the exergy analysis of absorption refrigeration machines[J]. Energy, 2007, 33(6): 890-907.
- [22] BAI T, YU J L, YAN G. Advanced exergy analyses of an ejector expansion transcritical CO₂ refrigeration system [J]. Energy Conversion and Management, 2016, 126: 850-861.
- [23] YANG D Z, LI Y, XIE J, et al. Exergy destruction characteristics of a transcritical carbon dioxide two-stage compression/ejector refrigeration system for low-temperature cold storage[J]. Energy Reports, 2022, 8: 8 546-8 562.
-
- (上接第 55 页)
- [9] 周敏, 朱萌萌, 王珍, 等. QuEChERS-VADLLME-内标法-GC-MS/MS 快速测定铁皮石斛中农药残留[J]. 食品研究与开发, 2019, 40(16): 135-145.
- ZHOU M, ZHU M M, WANG Z, et al. Study about rapid analysis of pesticide residues in *Dendrobium candidum* by application of vortex-assisted dispersive liquid-liquid microextraction and QuEChERS and internal standard method coupled with GC-MS/MS [J]. Food Research and Development, 2019, 40(16): 135-145.
- [10] 贾宁, 曾绍东, 陈吴海, 等. 超高效液相色谱—串联质谱法测定铁皮石斛中的吡咯里西啶生物碱[J]. 现代食品科技, 2022, 38(2): 295-304.
- JIA N, ZENG S D, CHEN W H, et al. Determination of pyrrolizidine alkaloids in *Dendrobium officinale* kimura et migo by UPLC-MS/MS[J]. Modern Food Science & Technology, 2022, 38(2): 295-304.
- [11] 肖苏萍, 钟荣荣, 高慧, 等. 超高效液相色谱—串联质谱法快速测定不同石斛中 8 种农药残留量[J]. 中国现代中药, 2020, 22(4): 603-608, 621.
- XIAO S P, ZHONG R R, GAO H, et al. Rapid detection of 8 pesticide residues in different *Dendrobii Caulis* by ultra high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. Modern Chinese Medicine, 2020, 22(4): 603-608, 621.
- [12] 钟冬莲, 汤富彬, 莫润宏, 等. 分散固相萃取—高效液相色谱—串联质谱法测定铁皮石斛中 8 种有机磷农药残留[J]. 分析试验室, 2017, 36(5): 571-575.
- ZHONG D L, TANG F B, MO R H, et al. Determination of 8 organophosphorus pesticides in fresh *Dendrobium officinale* by dispersive solid-phase extraction method and high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Chinese Journal of Analysis Laboratory, 2017, 36(5): 571-575.
- [13] 张艳. 农药残留分析中不同提取溶剂的评价[J]. 甘肃农业科技, 2006(9): 28-29.
- ZHANG Y. Evaluation different extraction solvent in analysis of pesticide residues[J]. Gansu Agricultural Science and Technology, 2006(9): 28-29.