

# Sin-QuEChERS 结合 UPLC-MS/MS 同时检测茶叶中 10 种有机磷农药残留

兰 韬<sup>1</sup>, 初 侨<sup>1</sup>, 郝东宇<sup>1,2</sup>, 刘松南<sup>3</sup>, 席兴军<sup>1</sup>, 潘灿平<sup>4</sup>, 张维冰<sup>2</sup>

(1. 中国标准化研究院, 北京 100191; 2. 齐齐哈尔大学, 黑龙江 齐齐哈尔 161006;

3. 北京市茶叶质量监督检验站, 北京 100162; 4. 中国农业大学, 北京 100083)

**摘要:** 基于茶叶样品基质复杂的特点, 采用简易的基质分散净化(Sin-QuEChERS)法对样品前处理技术加以改进, 并结合超高效液相色谱-串联质谱(UPLC-MS/MS)技术, 建立了同时检测茶叶中 10 种有机磷农药残留的分析方法。与传统的样品预处理方法相比, 该方法在保证重复性和稳定性的前提下, 具有操作简单、省时省力、普适性好、灵敏度高等优点。在优化的 Sin-QuEChERS 方法提取净化条件和 UPLC-MS/MS 检测条件下, 可将样品前处理时间控制在 10 min 以内, 使每个样品的分析在 0.5 h 内完成。结果表明: 10 种有机磷农药的线性范围为 1~500  $\mu\text{g/L}$ , 检出限为 0.08~1.38  $\mu\text{g/kg}$ , 定量限为 0.27~4.60  $\mu\text{g/kg}$ ; 在不同的加标水平下, 平均回收率在 71.6%~115.0% 之间, RSD 小于 14.5%, 与国家标准方法的检测结果接近。将该方法应用于检测空白茶叶加标样品和 20 种市售茶叶中有机磷农药, 验证了方法的可行性。该研究可为快速、简易、准确地评价茶叶中多种有机磷类农药的质量安全提供方法参考。

**关键词:** Sin-QuEChERS; 超高效液相色谱-串联质谱(UPLC-MS/MS); 茶叶; 有机磷农药

**中图分类号:** O657.63 **文献标志码:** A **文章编号:** 1004-2997(2019)03-0268-12

**doi:** 10.7538/zpxb.2018.0123

## Simultaneously Detection of 10 Organophosphorus Pesticides Residues in Tea by Sin-QuEChERS with UPLC-MS/MS

LAN Tao<sup>1</sup>, CHU Qiao<sup>1</sup>, HAO Dong-yu<sup>1,2</sup>, LIU Song-nan<sup>3</sup>, XI Xing-jun<sup>1</sup>,  
PAN Can-ping<sup>4</sup>, ZHANG Wei-bing<sup>2</sup>

(1. China Institute of Standardization, Beijing 100191, China; 2. Qiqihar University, Qiqihar 161006, China;

3. Beijing Tea Quality Supervision and Inspection Station, Beijing 100162, China;

4. China Agricultural University, Beijing 100083, China)

**Abstract:** Based on the characteristics of tea samples, a method was established for sim-

收稿日期: 2018-09-26; 修回日期: 2018-11-09

基金项目: 国家重点研发计划(2017YFF0207800); 国家质量监督检验检疫总局科技计划项目(2017QK108); 中央级公益性科研院所基本科研业务费(562017Y-5284); 广西创新驱动发展专项课题(AA17204043)资助

作者简介: 兰 韬(1984—), 男(汉族), 安徽人, 助理研究员, 从事标准样品研究。E-mail: lantao@cniis.gov.cn

通信作者: 席兴军(1973—), 男(壮族), 广西人, 副研究员, 从事标准样品研究。E-mail: xixj@cniis.gov.cn

潘灿平(1970—), 男(汉族), 湖南人, 教授, 从事农药残留与环境毒理方面的研究。E-mail: canpingp@cau.edu.cn

网络出版时间: 2019-04-16; 网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2979.TH.20190416.0847.002.html>

ultaneously detection of 10 organophosphorus pesticides residues (dimethoate, omethoate, phosemet, malathion, dipterex, dichlorovos, quinalphos, demeton, methamidophos, monocrotophos). In this method, a novel pretreatment method of Sin-QuEChERS was used for extraction and purification, and ultra-high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS) technology was used for detection. In view of the strong matrix effect of tea samples and the characteristics of organophosphorus pesticide decomposition with heat, a packing column filled with PSA, C18, carbon multiwalled nanotubes (CMWNTs) was applied in the Sin-QuEChERS methods. After an ordinary extraction by acetonitrile, vortex oscillation and centrifugation, the purification of chlorophyll, lutein and tea polyphenols in tea leaves was processed with a simple pressing of the Sin-QuEChERS packing column. The purified solution can be directly injected into the detector. This Sin-QuEChERS method can improve the removal effect of matrix interference by SPE, improve the purification effect of pigments, lipids and some sugar sterols, and reduce the interference of chromatogram. Compared with other extraction and purification methods, it has the advantages of simple operation, obvious purification effect on impurities, less adsorption on pesticides and accurate results, and can greatly shorten the analysis time. At the same time, because this method does not involve heating and other links, it is suitable for temperature decomposition of organophosphorus pesticides extraction and purification operation, and is able to improve the accuracy of organophosphorus pesticides detection results. In the optimized Sin-QuEChERS methods and UPLC-MS/MS detection conditions, the preprocessing time can be controlled within 10 min, so that the analysis time of a sample can be completed within the 0.5 h. The linear range of 10 organophosphorus pesticides is 1-500  $\mu\text{g}/\text{L}$ . The limit of detection (LOD) is 0.08-1.38  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , and the limit of quantity (LOQ) is 0.27-4.60  $\mu\text{g}/\text{kg}$ . The recoveries are 71.6%-115.0% and RSDs of different spiking levels are less than 14.5%. Compared with the traditional sample pretreatment method, the new developed method has the advantages of simple operation, time-saving, good universality and high sensitivity with the premise of ensuring repeatability. The method was applied for the detection of organophosphorus pesticides in standard addition of blank tea samples and 20 kinds of tea, which proved the feasibility and importance of the method. This method provides a new way to evaluate the quality and safety of tea more quickly, simply, cheaply and accurately.

**Key words:** Sin-QuEChERS; ultra-high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS); tea; organophosphorus pesticide

茶叶是我国传统饮品,富含茶多酚、氨基酸、黄酮、茶多糖等营养物质<sup>[1]</sup>,具有降低胆固醇、提高免疫力、减肥瘦身等保健功效,深受人们的喜爱。但茶叶中农药残留问题制约了我国茶叶产业的发展<sup>[2-5]</sup>。有机磷农药是一类含有磷原子的有机酯类化合物或硫羟衍生物,因其具有药效高、品种多、防治范围广、成本低、选择性好、药害小、可降解、残毒低等优点,已成为茶

叶种植中广泛使用的一类农药<sup>[6-7]</sup>。目前,各类有机磷农药中毒事件频发,如日本的马拉硫磷污染食品事件<sup>[8]</sup>、印度的久效磷中毒惨案<sup>[9]</sup>等,都说明了有机磷农药的残留毒害问题日益严重,需要加大对其管控的力度。

近年来,我国对茶叶中有机磷农药残留进行了较严格的规定。如 2017 年实施的 GB 2763—2016<sup>[10]</sup>中规定:甲胺磷等农药的限量值为 0.05

mg/kg,接近大部分检测方法的极限。由于有机磷农药具有升温分解的特性,这对农残提取净化方法的准确度、灵敏度提出了更高的要求。茶叶中含有大量的茶多酚、咖啡因、叶绿素等多酚、嘌呤和色素类物质<sup>[11]</sup>,具有很强的基质效应,严重影响茶叶中痕量农药残留的检测<sup>[12]</sup>。目前,茶叶中农药残留检测的样品前处理方法主要有固相萃取法<sup>[13]</sup>、固相微萃取法<sup>[14]</sup>、液-液萃取法<sup>[15]</sup>、加速溶剂萃取法<sup>[16]</sup>、基质固相分散法<sup>[17]</sup>等,这些传统方法在一定程度上能够满足基本的茶叶样品前处理需求,但操作方法以及试剂消耗还有待简化。

QuEChERS (Quick、Easy、Cheap、Effective、Safe)方法是由美国农业部 Anastassiades 教授于 2003 年开发的一种用于农产品检测的快速样品前处理技术<sup>[18]</sup>。即先将样品粉碎,然后用乙腈提取,加入无水  $MgSO_4$  等盐类去除水分,再加入乙二胺-*N*-丙基硅烷(PSA)等吸附剂除杂后,取上清液进行检测。该方法具有简便、回收率高等优点<sup>[19]</sup>,结合高灵敏的液相色谱-质谱联用法,已成为目前农药和兽药残留检测的主流方法<sup>[20-29]</sup>。

Sin-QuEChERS 方法是对 QuEChERS 方法的改进,即采用 Sin-QuEChERS 净化小柱可对样品溶液实现一步净化<sup>[30]</sup>,结构图示于图 1。将具有较大比表面积的多壁碳纳米管

与 PSA、C18 等固相材料及优化柱体结构相结合,制成 Sin-QuEChERS 小柱。将样品置于离心管后,加入乙腈涡旋振荡、离心,将 Sin-QuEChERS 小柱插入离心管内,按压 Sin-QuEChERS 小柱得上净化液,净化液可直接进样。该方法能够改善基质干扰的去除效果,如对色素、脂类、部分糖类甾醇类等的净化效果有明显提高,色谱图干扰明显减小。与其他提取净化方法相比,具有操作简单、对杂质净化效果明显、对农药吸附少、结果准确等优点,能够极大地缩短分析时间。同时,由于该方法不涉及加热环节,非常适用于分析升温分解的有机磷农药。目前,Sin-QuEChERS 前处理技术还处于起步阶段,尚未被用于药物残留(特别是有机磷农药)检测领域。

本研究拟采用 Sin-QuEChERS 方法结合超高效液相色谱-串联质谱(UPLC-MS/MS)法,检测茶叶中有机磷农药残留。针对茶叶样品具有较强基质效应以及有机磷农药升温易分解的特点,对 Sin-QuEChERS 样品前处理技术进行改进。选取 GB 2763—2016 中对茶叶制定了限量要求的氧化乐果(OME)、敌百虫(DIP)、甲胺磷(MET)、内吸磷(DEM)等 4 种有机磷农药,以及乐果(DIM)、亚胺硫磷(PHO)、马拉硫磷(MAL)、啶硫磷(QUI)、敌敌畏(DIC)、久效磷(MON)等 6 种容易在茶树上

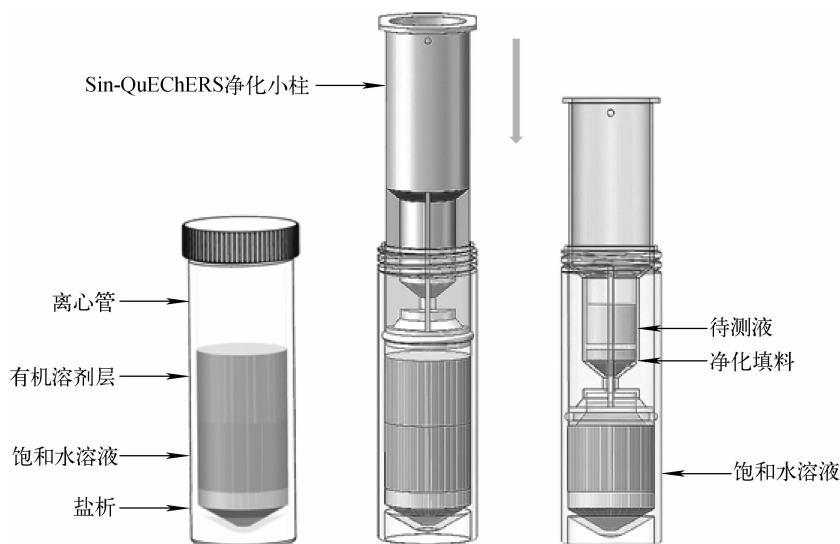


图 1 Sin-QuEChERS 净化小柱结构图

Fig. 1 Diagram of the Sin-QuEChERS purification column

超范围使用的有机磷农药为研究对象,进行 UPLC-MS/MS 检测。希望为快速、简易、准确地评价茶叶的质量安全奠定基础。

## 1 实验部分

### 1.1 主要仪器与装置

ACCELA 高效液相色谱仪、TSQ Quantum Access MAX 三重四极杆质谱仪:赛默飞世尔科技有限公司产品;高速万能粉碎机:天津市泰斯特仪器有限公司产品;循环水式多用真空泵:郑州长城科工贸有限公司产品;旋转蒸发器:上海亚荣生化仪器厂产品;固相萃取仪:上海汗诺仪器有限公司产品;VM200 旋涡振荡仪:托摩根生物科技有限公司产品;JJ 500 电子天平(感量 0.01 g):常熟双杰测试仪器厂产品;Eppendorf Research 移液器(量程 20~200  $\mu\text{L}$ ):Eppendorf 中国有限公司产品;Sin-QuEChERS 固相萃取小柱:北京绿绵科技有限公司产品。

### 1.2 主要材料与试剂

空白茶叶样品(不含待检 10 种有机磷农药):婺源茗眉绿茶样品,由江西省出入境检验检疫局技术中心提供;乐果、氧化乐果、亚胺硫磷、马拉硫磷、啶硫磷、敌百虫、甲胺磷、内吸磷、敌敌畏和久效磷标准品:浓度均为 100 mg/L,北京坛墨质检科技有限公司产品,于 4  $^{\circ}\text{C}$  冰箱保存;乙腈和甲醇:色谱纯,德国 Merck 公司产品;甲酸(分析纯):上海阿拉丁生化科技股份有限公司产品。

### 1.3 茶叶中有机磷农药残留的前处理方法

分别称取 20 g 各品种茶叶,经粉碎后过 80 目筛,装袋密封备用,于 4  $^{\circ}\text{C}$  冷藏保存。

提取方法:称取 3 g(精确至 0.01 g)粉碎后的茶叶粉末于 50 mL 离心管中,加入 10 mL 乙腈,旋涡振荡 2 min,以 5 000 r/min 离心 5 min。

净化方法:将 Sin-QuEChERS 小柱插入离心后的离心管内,按压 Sin-QuEChERS 小柱直至小柱内的待测液达 4 mL,取小柱内的上清液过 0.22  $\mu\text{m}$  有机滤膜后上机检测。

### 1.4 溶液配制

空白基质溶液:称取 3 g(精确至 0.01 g)空白茶叶样品,采用 Sin-QuEChERS 方法对此样品进行粉碎、提取、净化,所得上清液即为空白基质溶液,将该溶液置于 4  $^{\circ}\text{C}$  冰箱保存,备用。

农药标准储备溶液:分别取 100  $\mu\text{L}$  乐果、氧化乐果、亚胺硫磷、马拉硫磷、啶硫磷、敌百虫、甲胺磷、内吸磷、敌敌畏和久效磷的标准品于 10 mL 容量瓶中,用乙腈定容至刻度线,配制 1 000  $\mu\text{g}/\text{L}$  的 10 种有机磷农药混合标准溶液,现配现用。

基质农药标准储备溶液:分别取 100  $\mu\text{L}$  乐果、氧化乐果、亚胺硫磷、马拉硫磷、啶硫磷、敌百虫、甲胺磷、内吸磷、敌敌畏和久效磷等标准品于 10 mL 容量瓶中,以空白基质溶液定容至刻度线,配制 1 000  $\mu\text{g}/\text{L}$  的 10 种有机磷农药混合标准品,现配现用。

### 1.5 标准曲线

用乙腈将标准储备溶液稀释成 1、5、10、50、100、250、500  $\mu\text{g}/\text{L}$ ,经 HPLC-MS/MS 分析,绘制标准储备溶液的标准曲线。

用空白基质溶液将基质标准储备溶液稀释成 1、5、10、50、100、250、500  $\mu\text{g}/\text{L}$ ,经 HPLC-MS/MS 分析,绘制基质标准储备溶液的标准曲线。

### 1.6 加标回收实验

称取 3 g(精确至 0.01 g)空白茶叶样品粉末,分别加入 60、300、900  $\mu\text{L}$  农药标准储备溶液,使粉末中农药含量分别达到 20、100、300  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ,按照 1.3 节方法,将上清液过 0.22  $\mu\text{m}$  有机滤膜后上机检测。

### 1.7 色谱条件

Zorbax SB-C18 色谱柱(4.6 mm $\times$ 250 mm $\times$ 5  $\mu\text{m}$ );柱温 25  $^{\circ}\text{C}$ ;进样量 10  $\mu\text{L}$ ;流速 1.8 mL/min;流动相:A 为 0.1% 甲酸-水溶液,B 为乙腈;梯度洗脱程序:0~6 min(5%~40%B),6~9 min(40%~80%B),9~10 min(80%~100%B),10~13 min(100%B)。

### 1.8 质谱条件

电喷雾离子源正离子模式,多反应监测(MRM)模式扫描,雾化气为液氮,毛细管温度 320  $^{\circ}\text{C}$ ,雾化气温度 300  $^{\circ}\text{C}$ ,鞘气压力 6 125 kPa,辅助气压力 875 kPa,离子喷雾电压 3 200 V,CID 压力 0.2 kPa。

## 2 结果与讨论

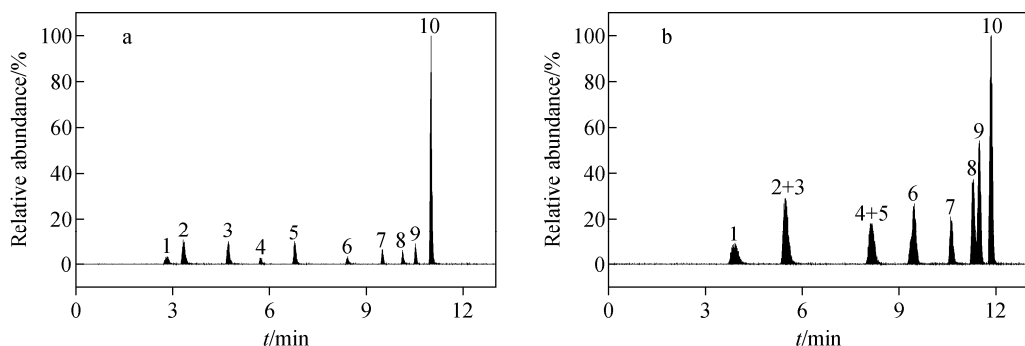
### 2.1 色谱条件的优化

本研究选用三通管路分流模式,当柱流速

为 1.8 mL/min 时,流入质谱端的流速为 0.39 mL/min,既满足了质谱仪对流速的要求,又能在保证柱压处于安全范围内的前提下,达到快速分离的目的。所以本实验选用流速 1.8 mL/min。

本研究对比了乙腈-0.1%甲酸水溶液和甲醇-0.1%甲酸水溶液两种流动相体系对 10 种有机磷农药的分离效果,结果示于图 2。在乙

腈-0.1%甲酸水溶液流动相体系下,各组分出峰时间较快,峰形尖锐,10 种农药组分均达到基线分离,示于图 2a。而在甲醇-0.1%甲酸水溶液流动相体系下,各组分出峰时间延迟,峰展宽明显,分离度较差,示于图 2b。综上,本研究选用乙腈-0.1%甲酸水溶液流动相体系进行后续实验。



注:a. 乙腈-0.1%甲酸水溶液;b. 甲醇-0.1%甲酸水溶液;1. 甲胺磷;2. 氧化乐果;3. 久效磷;  
4. 敌百虫;5. 乐果;6. 敌敌畏;7. 内吸磷;8. 亚胺磷;9. 马拉硫磷;10. 啶硫磷

图 2 两种流动相体系对 10 种有机磷农药分离对比

Fig. 2 Separation and comparison of 10 kinds of organophosphorus pesticides by two mobile phase systems

本研究所涉及的其他色谱条件,如色谱柱填料、色谱柱温等均参考国家标准 GB 23200.13—2016<sup>[31]</sup>,其中流动相梯度洗脱程序在此标准基础上进行了微调,以满足各种农药的基线分离,具体条件参见 1.7 节。

## 2.2 质谱条件的优化

本实验向流动相中加入 0.1%甲酸以提高目标物的离子化程度。校准仪器后,取农药标准品,用乙腈稀释成 1 mg/L 的标准溶液,经蠕动泵注入质谱仪中,选择 MRM 模式,并选取各农药的 2 对离子对,系统自动得到优化的碰撞能和套管透镜补偿电压,10 种有机磷农药的质谱参数列于表 1。

## 2.3 提取方法的优化

目前,在茶叶农残检测中,对提取方法中是否使用水存在较多争议。有研究者<sup>[32]</sup>认为,当样品含水量少于 25%时,需要补充水分来增加细胞通透性,提高前处理过程中农药残留的析出。但向样品中加水易造成大量基质溶出,影响检测的准确性。国家标准 GB 23200.13—

2016《食品安全国家标准茶叶中 448 种农药及相关化学品残留量的测定 液相色谱-质谱法》<sup>[31]</sup>和 AOAC 发布的食品中农药残留检测方法<sup>[33]</sup>,均直接通过乙腈提取样品。另外,庞国芳等<sup>[34]</sup>通过比对 16 个实验室的检测结果,证实茶叶中农药残留提取无需加水。为验证提取样品过程是否需要加水,本研究基于 SinQuEChERS 方法,分别考察了样品加水和不加水的提取效果。选取加标水平均为 300  $\mu\text{g/L}$  的 10 种有机磷混合标准品,第一组为不加水,以 10 mL 乙腈提取;第二组为加水提取,当加入 5 mL 水时,不足以浸润 3 g 茶叶样品,当加入 10 mL 水时,会稀释样品,所以,选择加入 7 mL 水和 10 mL 乙腈作为提取溶剂。两组的后续净化方法一致,回收率列于表 2。

由表 2 可见,是否加水对方法回收率的影响显著,不加水与加水提取的回收率分别为 71.6%~99.6%、47.5%~116.9%,且不加水提取 3 次测试结果的相对标准偏差(RSD)明显优于加水提取。

表 1 10 种有机磷农药的质谱参数

Table 1 Mass spectrometric parameters of 10 organophosphorus pesticides

序号 No.	化合物 Compounds	离子对 Ion pairs ( $m/z$ )	套管透镜补偿电压 Tube lens/V	碰撞能量 Collision energy/eV
1	乐果	229.9>198.8* 229.9>170.9	54	10,16
2	氧化乐果	214>125* 214>154.9	58	21,15
3	亚胺硫磷	317.9>159.9* 317.9>133	59	15,33
4	马拉硫磷	331>127* 331>99.1	62	12,23
5	敌百虫	256.9>220.9* 256.9>109.1	73	11,18
6	敌敌畏	220.9>109* 220.9>127	74	17,7
7	啮硫磷	299>147* 299>163	69	22,21
8	内吸磷	259>89.1* 259>61.3	48	6,32
9	甲胺磷	142>94.1* 142>125	62	15,14
10	久效磷	224>127* 224>98.2	58	16,8

注: \* 表示定量离子对

表 2 加水和不加水提取的回收率对比

Table 2 Comparison of recoveries of Sin-QuEChERS method with water extraction and without water extraction

农药 Pesticides	不加水 Extraction without water		加水 Extraction with water	
	回收率 Recoveries/%	相对标准偏差 RSDs/%	回收率 Recoveries/%	相对标准偏差 RSDs/%
乐果	99.3	2.1	85.4	4.3
氧化乐果	89.2	12.0	87.2	8.4
亚胺硫磷	85.2	9.8	47.5	2.0
马拉硫磷	90.5	8.6	54.5	7.2
敌百虫	89.7	11.7	111.6	13.7
敌敌畏	99.6	10.1	116.9	19.1
啮硫磷	89.3	10.6	94.3	0.8
内吸磷	96.3	7.0	78.9	9.1
甲胺磷	90.7	12.4	56.1	2.9
久效磷	71.6	14.5	91.0	4.4

以滇红茶一等品为例,按照 Sin-QuEChERS 的提取方法对茶叶进行提取,比较加水与不加水提取时的溶液颜色。结果表明,加水提取的上层清液颜色明显比不加水提取的颜色深,说明加水提取后大量色素类物质溶出,其基质影响明显高于不加水提取,不利于后续的净化过程,造成提取回收率较差,所以本实验采用不加水提取的方法。

## 2.4 基质效应

在实际农药残留检测中,当存在基质效应时,使用纯溶剂标准曲线进行校准,常会引起分析结果偏差和样品回收率的错误计算。对基质

效应不明显的化合物,基质标准曲线与溶剂标准曲线基本重合。本研究通过对比不含基质的标准工作溶液标准曲线(A)和含基质(浓度 3 g/mL)的标准工作溶液标准曲线(B)的斜率,以表征 10 种有机磷农药的基质效应,结果列于表 3。结果表明,敌敌畏、啶硫磷、马拉硫磷、内吸磷、乐果等 5 种农药的基质效应不明显,敌百虫、甲胺磷、亚胺硫磷等 3 种农药存在明显的基质减弱效应,氧化乐果存在一定的基质增强效应,久效磷的基质增强效应非常明显。鉴于部分农药存在较明显的基质效应,后续均需基于基质溶液进行实验。

表 3 10 种有机磷农药的基质效应对比

Table 3 Comparison of matrix effect on 10 organophosphorus pesticides

农药 Pesticides	标准溶液的线性方程 Regression equation of standard solution (A)	基质溶液的线性方程 Regression equation of matrix solution (B)	斜率比 B/A Ratio of the slope B/A
乐果	$y=2034x-698.5$	$y=1977x-917.8$	0.97
氧化乐果	$y=1254x-327.6$	$y=1540x-1281$	1.22
亚胺硫磷	$y=1520x-565.8$	$y=1332x-1748$	0.88
马拉硫磷	$y=1240x-611.1$	$y=1170x-713.8$	0.94
敌百虫	$y=397.0x-665.0$	$y=339.5x-680.5$	0.86
敌敌畏	$y=434.6x-520.4$	$y=442.0x-1092$	1.02
啶硫磷	$y=8527x+147.1$	$y=8892x-1807$	1.04
内吸磷	$y=855.8x-646.7$	$y=798.8x-449.0$	0.93
甲胺磷	$y=646.1x-806.2$	$y=579.4x-1204$	0.90
久效磷	$y=2086x-444.5$	$y=3468x-92.80$	1.66

## 2.5 方法的线性范围、灵敏度、检出限、定量限

10 种有机磷农药的线性方程、线性范围、检出限、定量限列于表 4。10 种有机磷农药 3 次检测的线性范围均为 1~500  $\mu\text{g/L}$ ,峰面积与样品浓度之间的线性关系良好,线性相关系数在 0.999 4~1.000 0 之间。以定量离子对的 3 倍信噪比(S/N)确定方法的检出限(LOD)为 0.08~1.38  $\mu\text{g/kg}$ ,以定量离子对的 10 倍信噪比(S/N)确定方法的定量限(LOQ)为 0.27~4.60  $\mu\text{g/kg}$ 。

## 2.6 方法的回收率与精密度

为验证方法的可靠性,本研究对空白茶叶

样品进行加标回收实验,加标水平分别为 20、100 和 300  $\mu\text{g/kg}$  的混合标准品,每个加标水平做 5 次平行实验,方法回收率和精密度列于表 5。加标水平为 20、100、300  $\mu\text{g/kg}$  时,10 种农药的平均回收率为 77.6%~110.7%、74.6%~108.4%、71.6%~99.6%,RSD 分别小于 13.6%、11.9%、14.5%。该结果表明,本研究建立的 Sin-QuEChERS 方法在不同加标水平下,平均回收率均处于 71.6%~115.0% 之间,RSD 小于 14.5%,具有较高的回收率和良好的精密度,能够满足多种茶叶农残检测的要求。

表 4 10 种有机磷农药的线性方程和线性范围 ( $n=3$ )Table 4 Linear equations, linear ranges for 10 organophosphorus pesticides ( $n=3$ )

农药 Pesticides	保留时间 $t_R$ /min	线性回归方程 Regression equations	线性范围 Linear ranges/ ( $\mu\text{g/L}$ )	线性相关系数 Correlation coefficients( $R^2$ )	检出限 LODs/ ( $\mu\text{g/kg}$ )	定量限 LOQs/ ( $\mu\text{g/kg}$ )
乐果	6.8	$y=1977x-917.8$	1~500	0.9999	0.16	0.52
氧化乐果	3.4	$y=1540x-1281$	1~500	1.0000	0.08	0.27
亚胺硫磷	10.2	$y=1332x-1748$	1~500	1.0000	0.26	0.87
马拉硫磷	10.5	$y=1170x-713.8$	1~500	0.9994	0.27	0.88
敌百虫	5.7	$y=339.5x-680.5$	1~500	0.9999	1.21	4.04
敌敌畏	8.4	$y=442.0x-1092$	1~500	0.9999	1.04	3.48
啶硫磷	11.0	$y=8892x-1807$	1~500	0.9998	0.29	0.96
内吸磷	9.5	$y=798.8x-449.0$	1~500	0.9998	0.18	0.60
甲胺磷	2.8	$y=579.4x-1204$	1~500	0.9996	1.38	4.60
久效磷	4.8	$y=3468x-92.80$	1~500	0.9997	0.19	0.64

表 5 方法的回收率 ( $n=5$ )Table 5 Recoveries of the method for adding pesticides ( $n=5$ )

农药 Pesticides	加标浓度 Spiked concentrations (20 $\mu\text{g/kg}$ )		加标浓度 Spiked concentrations (100 $\mu\text{g/kg}$ )		加标浓度 Spiked concentrations (300 $\mu\text{g/kg}$ )	
	回收率 Recoveries/%	RSDs/%	回收率 Recoveries/%	RSDs/%	回收率 Recoveries/%	RSDs/%
乐果	110.7	7.4	91.5	6.2	99.3	2.1
氧化乐果	104.9	3.7	108.4	2.4	89.2	12.0
亚胺硫磷	85.9	6.1	79.3	5.4	85.2	9.8
马拉硫磷	86.2	9.2	74.6	6.6	90.5	8.6
敌百虫	109.7	11.6	74.8	4.2	89.7	11.7
敌敌畏	108.2	7.2	90.0	11.9	99.6	10.1
啶硫磷	100.4	13.6	103.2	4.0	89.3	10.6
内吸磷	77.6	13.5	84.9	7.9	96.3	7.0
甲胺磷	87.1	11.9	80.8	10.5	90.7	12.4
久效磷	101.4	3.9	78.1	9.5	71.6	14.5

## 2.7 Sin-QuEChERS 方法与国家标准方法的比较

以绿茶为例,将国家标准方法 GB 23200.13—2016<sup>[31]</sup>(敌敌畏参照 SN/T 1950—2007 行业标准<sup>[35]</sup>)中的 10 种有机磷农药的回收率作为理论数值,考察 Sin-QuEChERS 方法的回收率,结果列于表 6。结果表明,Sin-QuEChERS 方法的回收率在 71.6%~115.0%之间,国家标准方法的回收率在 60.9%~118.5%之间,二者的回收率差异较小。在国家标准方法中,每个样品需要增加旋转蒸发步骤,整个样品前处理时间一般需要约 1.5 h。而在本研究中,Sin-QuEChERS 方法的样品前处理仅需 10 min,可在 0.5 h 内完成 1 个样品检测。该方法既保证了实验结果的

表 6 Sin-QuEChERS 方法和国家标准方法对 10 种有机磷农药回收率的对比

Table 6 Comparison of recoveries of 10 pesticides between Sin-QuEChERS and the national standards

农药 Pesticides	回收率 Recoveries/%	
	Sin-QuEChERS	国家标准方法
乐果	91.5~110.7	82.7~83.3
氧化乐果	89.2~114.2	60.9~92.1
亚胺硫磷	79.3~90.7	89.9~92.5
马拉硫磷	74.6~99.5	75.6~93.4
敌百虫	74.8~109.7	88.2~107.2
敌敌畏	90.0~108.2	84.0~105.0
啶硫磷	89.3~115.0	87.1~87.4
内吸磷	77.6~96.3	70.4~79.5
甲胺磷	80.8~90.7	97.3~108.5
久效磷	71.6~101.4	—

稳定性,又大大提升了检测效率。另外, Sin-QuEChERS 方法提供了久效磷的回收率范围,可为标准方法提供补充。

## 2.8 实际样品检测

采用本研究建立的 Sin-QuEChERS 结合

HPLC-MS/MS 方法,检测市售的黄山毛峰、碧螺春、龙井茶、祁门红茶、滇红茶、正山小种红茶、白毫银针、白牡丹、安吉白茶、安化黑茶一等品和二等品共 20 种茶叶中的 10 种有机磷农药,结果列于表 7。

表 7 20 种茶叶样品中有机磷农药的检测结果

Table 7 Detection results of organophosphorus pesticides in 20 kinds of tea

茶叶 Tea	浓度 Concentrations/( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )									
	MET	OME	MON	DIP	DIM	DIC	DEM	PHO	MAL	QUI
龙井茶一等品	—	—	—	—	—	—	—	—	8.76	—
龙井茶二等品	—	—	—	—	7.01	—	—	—	—	—
碧螺春一等品	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
碧螺春二等品	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
黄山毛峰一等品	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
黄山毛峰二等品	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
安吉白茶一等品	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
安吉白茶二等品	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
白毫银针一等品	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
白毫银针二等品	—	6.65	—	—	—	—	—	—	—	—
白牡丹一等品	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
白牡丹二等品	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
正山小种红茶一等品	—	—	—	—	7.15	—	—	—	—	—
正山小种红茶二等品	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
滇红一等品	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
滇红二等品	—	5.96	—	—	4.69	—	—	—	—	—
祁门红茶一等品	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
祁门红茶二等品	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
安化黑茶一等品	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
安化黑茶二等品	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

注:—表示未检出

由表 7 可见,市售茶叶中有机磷农药的检出量较少,均低于欧盟标准中最高 0.010 mg/kg 的限量要求,说明我国对于茶叶中有机磷农药的管控较严格。

## 3 结论

本研究针对茶叶样品具有较强的基质效应以及有机磷农药升温易分解的特点,对 Sin-QuEChERS 样品前处理技术进行改进,并结合

UPLC-MS/MS 技术建立了同时检测茶叶中 10 种有机磷农药残留的方法。在优化的 Sin-QuEChERS 方法条件和 UPLC-MS/MS 检测条件下,样品前处理时间可控制在 10 min 以内,每个样品能够在 0.5 h 内完成分析。10 种有机磷农药的线性范围为 1~500  $\mu\text{g}/\text{L}$ ,检出限为 0.08~1.38  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ,定量限为 0.27~4.60  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。在不同的加标水平下,平均回收率均在 71.6%~115.0% 之间,RSD 小于 14.5%,

具有较高的回收率和良好的精密度。与传统样品预处理方法相比,本方法在保证方法灵敏度、精密度和普适性的基础上,极大地提升了方法的易用性和分析效率。将该方法应用于空白茶叶样品加标分析和 20 种市售茶叶中有机磷农药的检测,证明了方法的可行性。该方法能够为快速、简易和准确地检测茶叶中多种有机磷农药残留提供新途径。

### 参考文献:

- [1] HU J, CHEN Y, NI D. Effect of superfine grinding on quality and antioxidant property of fine green tea powders[J]. *LWT-Food Science & Technology*, 2012, 45(1): 8-12.
- [2] KOBAYASHI M, IKEDA I. Mechanisms of inhibition of cholesterol absorption by green tea catechins[J]. *Food Science & Technology Research*, 2017, 23(5): 627-636.
- [3] 霍丹群,付贝贝,李俊杰,杨眉,沈才洪,罗惠波,侯长军. 基于液体阵列比色传感器鉴别不同茶叶的新方法[J]. *高等学校化学学报*, 2016, 37(5): 873-880.
- HUO Danqun, FU Beibei, LI Junjie, YANG Mei, SHEN Caihong, LUO Huibo, HOU Changjun. New method for identifying different teas based on liquid colorimetric sensor[J]. *Chemical Journal of Chinese Universities*, 2016, 37(5): 873-880(in Chinese).
- [4] 张娅婷,秦广雍,孔令军,张书胜. 利用亚临界丁烷分离茶树鲜叶中的阿维菌素[J]. *分析化学*, 2017, 45(6): 844-850.
- ZHANG Yating, QIN Guangyong, KONG Lingjun, ZHANG Shusheng. Subcritical butane extraction for effective removal of abamectin in fresh tea leaves[J]. *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, 2017, 45(6): 844-850(in Chinese).
- [5] YUE N, KUANG H, SUN L, WU L, XU C. An empirical analysis of the impact of EU's new food safety standards on China's tea export[J]. *International Journal of Food Science Technology*, 2010, 45(4): 745-750.
- [6] CHEN H P, HAO Z X, WANG Q H, JIANG Y, PAN R, WANG C, LIU X, LU C. Occurrence and risk assessment of organophosphorus pesticide residues in Chinese tea[J]. *Human and Ecological Risk Assessment: An International Journal*, 2016, 22(1): 28-38.
- [7] ZHENG X Y, HE L J, DUAN Y J, JIANG X, XIANG G, ZHAO W, ZHANG S. Poly (ionic liquid) immobilized magnetic nanoparticles as new adsorbent for extraction and enrichment of organophosphorus pesticides from tea drinks[J]. *Journal of Chromatography A*, 2014, 1 358: 39-45.
- [8] WU M Y C, HSU M Y, CHEN S J, HWANG D K, YEN T H, CHENG C M. Point-of-care detection devices for food safety monitoring: proactive disease prevention[J]. *Trends in Biotechnology*, 2017, 35(4): 288-300.
- [9] KRAUSE K H, VAN THRIEL C, DE SOUSA P A, LEIST M, HENGSTLER J G. Monocrotophos in Gandaman village: India school lunch deaths and need for improved toxicity testing[J]. *Archives of Toxicology*, 2013, 87(10): 1 877-1 881.
- [10] GB 2763—2016. 食品安全国家标准-食品中农药最大残留限量[S]. 北京: 中国标准出版社, 2016.
- [11] ROSHANAK S, RAHIMMALEK M, GOLI S A H. Evaluation of seven different drying treatments in respect to total flavonoid, phenolic, vitamin C content, chlorophyll, antioxidant activity and color of green tea (*Camellia sinensis* or *C. assamica*) leaves[J]. *Journal of Food Science and Technology*, 2016, 53(1): 721-729.
- [12] 黄田田,汤桦,董晓倩,刘松南,许雯雯,王华,宗琦. 多壁碳纳米管 QuEChERS-气相色谱法测定茶叶中 23 种有机磷农药残留量[J]. *食品科学*, 2018, 39(6): 315-321.
- HUANG Tiantian, TANG Hua, DONG Xiaolian, LIU Songnan, XU Wenwen, WANG Hua, ZONG Qi. Determination of 23 organophosphorus pesticide residues in tea by QuEChERS extraction with multi-walled carbon nanotubes (MWCNTs) coupled to gas chromatography[J]. *Food Science*, 2018, 39(6): 315-321 (in Chinese).
- [13] HOU X, LEI S R, QIU S, GUO L, YI S, LIU W. A multi-residue method for the determination of pesticides in tea using multi-walled carbon nanotubes as a dispersive solid phase extraction absorbent[J]. *Food Chemistry*, 2014, 153: 121-129.

- [14] LI J X, ZHANG Z J, SUN M Y, ZHANG B L, FAN C L. Use of a headspace solid-phase micro-extraction-based methodology followed by gas chromatography-tandem mass spectrometry for pesticide multiresidue determination in teas[J]. *Chromatographia*, 2018, 81(5): 809-821.
- [15] FANG Y, TIAN W, PEI F, LI P, SHAO X L, FAN Y, HU Q. Simultaneous determination of pesticide residues and antioxidants in blended oil using a liquid-liquid extraction combined with dispersive solid phase extraction method[J]. *Food Chemistry*, 2017, 229: 347-353.
- [16] KDAIR H A, ABAS F, ZAKARIA O, ISMAIL I S, LAJIS N H. Analysis of pesticide residues in tea using accelerated solvent extraction with in-cell cleanup and gas chromatography tandem mass spectrometry[J]. *Analytical Methods*, 2015, 7: 3 141-3 147.
- [17] 张新忠, 罗逢键, 张芬, 刘光明, 楼正云, 陈宗懋. 分散固相萃取净化气相色谱串联质谱法测定茶叶、西葫芦和芒果中噻嗪酮和噻嗪酮残留量[J]. *分析化学*, 2012, 40(11): 1 686-1 692.
- ZHANG Xinzhong, LUO Fengjian, ZHANG Fen, LIU Guangming, LOU Zhengyun, CHEN Zongmao. Residue determination of hexythiazox and buprofezin in tea, marrow and mango by gas chromatography coupled with tandem mass spectrometry after dispersive solid phase extraction cleanup[J]. *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, 2012, 40(11): 1 686-1 692(in Chinese).
- [18] ANASTASSIADES M, LEHOTAY S J, STAJNBAHER D, SCHIENCK F J. 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.
- [19] 董晓倩, 刘松南, 刘蕊, 黄田田, 宗琦, 王华, 欧阳亚旭. QuEChERS-液相色谱-串联质谱法测定茶叶中的丁醚脒[J]. *食品科学*, 2017, 38(8): 244-250.
- DONG Xiaoqian, LIU Songnan, LIU Rui, HUANG Tiantian, ZONG Qi, WANG Hua, OUYANG Yaxu. Determination of diafenthiuron residue in tea by QuEChERS-liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. *Food Science*, 2017, 38(8): 244-250(in Chinese).
- [20] HE Z, WANG L, PENG Y, LUO M, WANG W, LIU X. Multiresidue analysis of over 200 pesticides in cereals using a QuEChERS and gas chromatography-tandem mass spectrometry-based method[J]. *Food Chemistry*, 2015, 169: 372-380.
- [21] RIZZETTI T M, KEMMERICH M, MARTINS M L, PRESTES O D, ADAIME M B, ZANELLA R. Optimization of a QuEChERS based method by means of central composite design for pesticide multiresidue determination in orange juice by UHPLC-MS/MS[J]. *Food Chemistry*, 2016, 196: 25-33.
- [22] LOZANO A, RAJSKI Ł, BELMONTE-VALLES N, UCLES A, UCLES S, MEZCUA M, FERNANDEZ-ALBA A R. Pesticide analysis in teas and chamomile by liquid chromatography and gas chromatography tandem mass spectrometry using a modified QuEChERS method: validation and pilot survey in real samples[J]. *Journal of Chromatography A*, 2012, 1 268: 109-122.
- [23] 刘松南, 赵新颖, 董晓倩, 许雯雯, 赵榕. QuEChERS 净化-液相色谱-串联质谱法测定茶叶中氯噻啉[J]. *色谱*, 2015, 33(11): 1 205-1 209.
- LIU Songnan, ZHAO Xinying, DONG Xiaoqian, XU Wenwen, ZHAO Rong. Determination of imidaclothiz in tea by QuEChERS cleanup and liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Chinese Journal of Chromatography*, 2015, 33(11): 1 205-1 209(in Chinese).
- [24] WU C C. Multiresidue method for the determination of pesticides in Oolong tea using QuEChERS by gas chromatography-triple quadrupole tandem mass spectrometry[J]. *Food Chemistry*, 2017, 229: 580-587.
- [25] 董亚蕾, 刘文婧, 曹进, 王钢力. QuEChERS-超高效液相色谱-串联质谱法测定坚果中 38 种农药残留[J]. *分析化学*, 2017, 9(45): 1 397-1 404.
- DONG Yalei, LIU Wenjing, CAO Jin, WANG Gangli. Determination of 38 kinds of pesticide residues in nuts by QuEChERS-ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, 2017, 9(45): 1 397-1 404(in Chinese).
- [26] ZHOU J, XU J J, CONG J M, CAI Z X, ZHANG J S, WANG J L, REN Y P. Optimiza-

- tion for quick, easy, cheap, effective, rugged and safe extraction of mycotoxins and veterinary drugs by response surface methodology for application to egg and milk[J]. *Journal of Chromatography A*, 2017, 1 532: 20-29.
- [27] ARIAS J L O, SCHNEIDER A, BATISTA-ANDRADE J A, VIEIRA A A, CALDAS S S, PRIMEL E G. Chitosan from shrimp shells: a renewable sorbent applied to the clean-up step of the QuEChERS method in order to determine multi-residues of veterinary drugs in different types of milk[J]. *Food Chemistry*, 2017, 240: 1 243-1 253.
- [28] 郭春景,李娜,王建忠. 超高效液相色谱-串联质谱法快速测定 8 种蔬菜中 114 种农药残留[J]. *质谱学报*, 2014, 35(3): 279-288.
- GUO Chunjing, LI Na, WANG Jianzhong. Rapid detectin of 114 pesticide residues in eight vegetables by UPLC-MS/MS[J]. *Journal of Chinese Mass Spectrometry Society*, 2014, 35(3): 279-288(in Chinese).
- [29] 郭春景,王建忠,郝晓莉. 利用 QuEChERS-UPLC-MS/MS 法测定甘蓝、草莓中 7 种农药残留的实验条件优化探索[J]. *质谱学报*, 2013, 34(2): 121-127.
- GUO Chunjing, WANG Jianzhong, HAO Xiaoli. The condition optimization determination of multi-residue of pesticides in cabbage and strawberry by QuEChERS-UPLC-MS/MS[J]. *Journal of Chinese Mass Spectrometry Society*, 2013, 34(2): 121-127(in Chinese).
- [30] ZHANG Q X. Extraction structure, extraction module, and liquid pretreatment device[P]. United States Patent, 2017/0326481 A1, 2017-11-16.
- [31] GB 23200.13—2016. 食品安全国家标准茶叶中 448 种农药及相关化学品残留量的测定液相色谱-质谱法[S]. 北京:中国标准出版社,2016.
- [32] 王翔,宋国新,胡耀铭. GC/MS 研究茶叶中拟除虫菊酯类农药残留的提取方法[J]. *质谱学报*, 2008, 29(2): 97-100.
- WANG Xiang, SONG Guoxin, HU Yaoming. Study on extraction of pyrethroid pesticide multi-residues in tea by GC/MS[J]. *Journal of Chinese Mass Spectrometry Society*, 2008, 29(2): 97-100(in Chinese).
- [33] AOAC Official Method 2007.01. Pesticide residues in foods by acetonitrile extraction and partitioning with magnesium sulfate[EB/OL]. [http://www.weber.hu/Downloads/SPE/QuEChERS/AOAC\\_2007\\_01.pdf](http://www.weber.hu/Downloads/SPE/QuEChERS/AOAC_2007_01.pdf).
- [34] 庞国芳,范春林,李岩,康健,常巧英,卜明楠,金春丽,陈辉. 茶叶中 653 种农药化学品残留 GC-MS、GC-MS/MS 与 LC-MS/MS 分析方法:国际 AOAC 方法评价预研究[J]. *分析测试学报*, 2012, 31(9): 1 017-1 030.
- PANG Guofang, FAN Chunlin, LI Yan, KANG Jian, CHANG Qiaoying, PU Mingnan, JIN Chunli, CHEN Hui. Determination of 653 pesticides and chemical contaminants residues in tea by GC-MS, GC-MS/MS and LC-MS/MS: the pre-collaborative study of aoac method efficiency evaluation[J]. *Journal of Instrumental Analysis*, 2012, 31(9): 1 017-1 030(in Chinese).
- [35] SN/T 1950—2007. 进出口茶叶中多种有机磷农药残留量的检测方法气相色谱法[S]. 北京:中国标准出版社,2007.