2024 年 12 月
December 2024

色 谱
Chinese Journal of Chromatography

Vol.42 No.12
1136～1144

研究论文

DOI：10.3724/SP.J.1123.2023.12021

基于改性多壁碳纳米管净化的高效液相色谱-三重四极杆/复合线性离子阱质谱测定南美白对虾中 66 种农药残留

周锐东[1,2]， 文宇鹏[1,2]， 霍文迪[2,3]， 张超英[2]， 刘 欢[2]，
孙慧武[2]， 吴立冬[2]， 李晋成[2*]

（1. 上海海洋大学水产与生命学院，上海 201306；2. 中国水产科学研究院农业农村部水产品质量安全控制重点实验室，北京 100141；3. 北京石油化工学院新材料与化工学院，北京 102617）

摘要：针对水产品农药残留分析过程中基质干扰强的现状，本研究利用多壁碳纳米管（MWCNTs）和海藻酸钠（SAL）制备了一种 MWCNTs-SAL 复合净化材料，建立了高效液相色谱-三重四极杆/复合线性离子阱质谱（HPLC-QTRAP-MS/MS）快速测定水产品中 66 种农药残留的分析方法。采用电喷雾装置将 MWCNTs 和 SAL 的复合溶液快速喷入 $CaCl_2$ 溶液中进行交联，制备 MWCNTs-SAL 复合材料。将乙腈作为提取溶剂，基于推杆式震荡型净化技术对提取液进行净化。采用 C_{18} RRHD 色谱柱（150 mm×3.0 mm，1.8 μm）对目标化合物进行分离，在多反应监测（MRM）模式下采集质谱数据，使用基质匹配混合标准溶液进行定量分析。实验比较了MWCNTs-SAL填料与商品化填料对南美白对虾提取液的净化效果，并考察了 MWCNTs-SAL 用量对目标化合物净化效果的影响。实验结果表明，66 种农药在 0.5～50 μg/L 内线性关系良好，相关系数均>0.99，检出限和定量限分别为 0.5～1 μg/kg 和 1～2 μg/kg；在低、中、高 3 个加标水平下，66 种目标化合物的回收率为 64.1%～107.3%，日内和日间精密度均小于 20.4%。该方法经济快速，简便高效，具有较高的灵敏度和重复性，是水产品中农药残留分析的可行方法。

关键词：多壁碳纳米管；高效液相色谱-三重四极杆/复合线性离子阱质谱；水产品；农药残留

中图分类号：O658　　**文献标识码**：A

Determination of 66 pesticide residues in *Litopenaeus vannamei* by high performance liquid chromatography-triple quadrupole/linear ion trap mass spectrometry based on modified multi-wall carbon nanotube purification

ZHOU Ruidong[1,2], WEN Yupeng[1,2], HUO Wendi[2,3], ZHANG Chaoying[2], LIU Huan[2], SUN Huiwu[2], WU Lidong[2], LI Jincheng[2*]

(*1. College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China; 2. Key Laboratory of Control of Quality and Safety for Aquatic Products, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Chinese Academy of Fishery Sciences, Beijing 100141, China; 3. School of New Materials and Chemical Engineering, Beijing Institute of Petrochemical Technology, Beijing 102617, China*)

Abstract: The complex composition of aquatic products, with high levels of protein and fat, significantly impacts the accuracy of liquid chromatography-mass spectrometry analysis for pesticide residue detection. Hence, developing effective purification materials is essential to

收稿日期：2023-12-18

* **通讯联系人**.E-mail：lijc@cafs.ac.cn.

基金项目：中国水产科学研究院基本科研业务基金（2024A001）；现代农业产业技术体系建设专项资金（CARS-48）；中国水产科学研究院科技创新项目（2020TD75）.

Foundation item: Basic Scientific Research Expenses of Chinese Academy of Fishery Sciences (No. 2024A001); Special Funds for the Construction of Modern Agricultural Industrial Technology System (No. CARS-48); Science and Technology Innovation Project of Chinese Academy of Fishery Sciences (No. 2020TD75).

本文为“第 24 届全国色谱学术报告会优秀论文专辑”稿件.

mitigate these matrix interferences. To address strong matrix interference in pesticide residue analysis, a composite material, multi-walled carbon nanotubes (MWCNTs)-sodium alginate (SAL) (MWCNTs-SAL), was developed and used as purification material in a push-rod oscillation purification column to establish a rapid method for analyzing 66 pesticide residues in *Litopenaeus vannamei*. The composite solution of MWCNTs and SAL was quickly sprayed into $CaCl_2$ solution by electrospray device for crosslinking, and MWCNTs-SAL materials were prepared. The results of scanning electron microscopy image proved the successful preparation of the MWCNTs-SAL. Acetonitrile, as the extraction solvent, was modified with acetic acid to augment the extraction efficiency of acidic pesticides, and anhydrous sodium sulfate was utilized to remove water from the matrix. Push-rod oscillation purification technology was used for purification of the post-centrifugation extract. The target compounds were separated using C_{18} RRHD column (150 mm×3.0 mm, 1.8 μm) and the mobile phases were consisted of 0.2% formic acid aqueous solution (containing 5 mmol/L ammonium acetate) and 0.2% formic acid methanol. The high performance liquid chromatography-triple quadrupole/linear ion trap mass spectrometry (HPLC-QTRAP-MS/MS) was used for separation and determination, and the data was collected through the multiple reaction monitoring (MRM) mode. Due to the different properties of the target compounds, positive and negative ion acquisition scan modes were employed for mass spectrometry analysis. The quantitative analyses of the 66 pesticides were achieved by matrix-matched standard curves. The purification effects of MWCNTs-SAL and commercial sorbents on the extraction of the 66 pesticides were compared. The pretreatment parameters, such as the optimal dosage of MWCNTs-SAL and anhydrous sodium sulfate on the purification effects of the 66 pesticides were also assessed. When using 50 mg MWCNTs-SAL and 100 mg anhydrous sodium sulfate as the purification materials, the purification effect of aquatic products was the best. The 66 pesticides demonstrated good linearities in the range of 0.5-50 μg/L, with correlation coefficients of greater than 0.99. The limits of detection and quantification for the 66 pesticides were 0.5-1 μg/kg and 1-2 μg/kg, respectively. The recoveries of the 66 pesticides under three spiked levels (low, medium, high) were 64.1%-107.3%. The intra- and inter-day precisions were both less than 20.4%. This study provides an economical, quick, efficient, and sensitive approach for pesticide residue detection in aquatic products.

Key words: multi-walled carbon nanotubes (MWCNTs); high performance liquid chromatography-triple quadrupole/linear ion trap mass spectrometry (HPLC-QTRAP-MS/MS); aquatic products; pesticide residues

水产品质量安全是现阶段社会关注和政府监管的重点,水产养殖环境中的农药滥用不仅会污染水环境,还会对水产品的质量安全造成威胁[1]。水产品中残留的农药可以通过食物链在生物体内富集并对人体健康造成潜在危害。已有研究表明,暴露于某些农药残留与多种急性和慢性疾病相关,包括肝衰竭、肾衰竭以及肿瘤等[2-4]。因此,对水产品中残留的农药进行测定对于保障水产品的质量安全具有

引用本文:周锐东,文宇鹏,霍文迪,张超英,刘欢,孙慧武,吴立冬,李晋成. 基于改性多壁碳纳米管净化的高效液相色谱-三重四极杆/复合线性离子阱质谱测定南美白对虾中 66 种农药残留. 色谱,2024,42(12):1136-1144.

ZHOU Ruidong, WEN Yupeng, HUO Wendi, ZHANG Chaoying, LIU Huan, SUN Huiwu, WU Lidong, LI Jincheng. Determination of 66 pesticide residues in *Litopenaeus vannamei* by high performance liquid chromatography-triple quadrupole/linear ion trap mass spectrometry based on modified multi-wall carbon nanotube purification. Chinese Journal of Chromatography, 2024, 42(12): 1136-1144.

重要意义。由于水产品基质中的干扰物质含量较高,在农药残留分析过程中,需要采用溶剂萃取、固相萃取、液液萃取等样品前处理方法对水产品基质进行净化,以降低干扰物质对水产品农药残留检测结果的影响[5,6]。然而,上述前处理方法存在耗时长和溶剂消耗量大的问题,无法满足农药的快速检测需求。

近年来,随着研究者对复杂体系分析领域的日益关注,多种高效样品制备方法得到了快速发展,如 QuEChERS 法和快速滤过型净化法[7];其中,快速滤过型净化法凭借其简单、高效以及集净化与固液分离功能于一体的优势,在水产品中化学危害因子的分析方面得到了快速发展,极大地简化了样品处理步骤,提高了分析效率[8]。快速滤过型净化法是在 QuEChERS 法基础上发展而来,其将十八烷基硅烷键合硅胶(C_{18})、乙二胺-*N*-丙基硅烷(PSA)或多壁碳纳米管(multi-walled carbon nanotubes, MWCNTs)等吸附材料填充到净化柱中,形成净化填料层,待样品提取液通过净化填料层后即可完成杂质的去除。快速滤过型净化法中常用的净化柱主要有快速滤过型净化柱(m-PFC)[9-11]和推杆式滤过型净化柱[12]等。Zhou 等[13]提出了一种推杆式震荡型净化方法,将 C_{18}作为净化填料,用于鱼肉组织中 7 种磺胺类药物和 2 种镇定剂类药物的残留分析,实现了高通量、半自动化的样品前处理过程。

选择合适的净化材料是获得良好净化效果的关键。与传统净化材料相比,MWCNTs 具有比表面积大、机械强度高和热稳定性好等诸多优势,且其可通过离子交换、π-π 相互作用等方式去除水产品提取液中的脂肪酸和磷脂等干扰物质[14],目前 MWCNTs 已被广泛用于样品富集和净化领域。王娇等[15]以羧基化 MWCNTs 和 C_{18}作为复合净化吸附剂,结合液相色谱-串联质谱,建立了中草药中 22 种三唑类杀菌剂的快速检测方法。涂祥婷等[16]将以一定比例混合的 C_{18}、PSA 和 MWCNTs 作为快速滤过型净化柱的净化材料,建立了鲫鱼体内 16 种全氟烷基化合物的高效液相色谱-串联质谱检测方法。虽然 MWCNTs 具有强大的吸附能力,但其分散性差、易团聚、称量困难以及生物兼容性不佳等缺点限制了其在快速滤过型净化柱中的单独应用。海藻酸钠(sodium alginate, SAL)是从褐藻中提取出来的一种天然多糖,具有价格低廉、含量丰富、无毒和可生物降解等优点,且易与 Ca^{2+}等二价金属阳离子发生交联,形成三维聚合物网络结构,提供更多的吸附位点。

针对上述问题,本研究将具有优良生物兼容性的 SAL 和具有优异吸附性能的 MWCNTs 结合,制备了一种经济实用、称量方便、吸附性能优异的 MWCNTs-SAL 复合净化材料,并基于自制的推杆式震荡型净化柱和高效液相色谱-三重四极杆/复合线性离子阱质谱(HPLC-QTRAP-MS/MS),建立了南美白对虾中 66 种农药残留的快速定量分析方法。该方法为农药残留检测方法开发、食用水产品农药污染状况调查以及农药残留风险评估等方面提供了理论和技术支持。

1 实验部分

1.1 仪器、试剂与材料

QTRAP 5500 型 HPLC-MS/MS 系统(美国 SCIEX 公司); H-2050 R 台式高速离心机(湖南湘仪实验室仪器开发有限公司); SB-5200 DTN 超声波清洗机(宁波新芝生物科技股份有限公司); MVM-2500 多管涡流混合器(上海泰坦科技股份有限公司);固相萃取柱(50 mg/3 mL,上海西木科学仪器有限公司)。

66 种农药混合标准溶液(100 μg/mL)购自上海安谱科技有限公司;乙腈、甲醇(HPLC 级)购于美国 J. T. Baker 公司;无水硫酸钠(纯度≥99.0%)购于中国上海国药化学试剂有限公司;乙酸铵(色谱级)购自美国 Thermo Fisher Scientific 公司;蒸馏水购自广州屈臣氏食品饮料有限公司;PSA、C_{18}、聚苯乙烯-二乙烯基苯填料(HLB)购自北京振翔科技有限公司;海藻酸钠粉购自北京索莱宝科技有限公司;氨基多壁碳纳米管购自南京先锋纳米有限公司。南美白对虾购自北京本地市场。

1.2 混合标准工作溶液的配制

用乙腈对 66 种农药的混合标准溶液进行逐级稀释,得到质量浓度为 1 mg/L 的混合标准工作溶液,于-20 ℃遮光保存,备用。

1.3 MWCNTs-SAL 的制备

将 2 g SAL 溶于 100 mL 蒸馏水中,磁力搅拌 2 h;加入 0.5 g MWCNTs 继续磁力搅拌 6 h,采用便携式电喷雾装置将 MWCNTs 和 SAL 的复合溶液喷入含有 300 mL $CaCl_2$ 溶液(0.1 mol/L)的烧杯中,得到 MWCNTs-SAL 水凝胶;将 MWCNTs-SAL 水凝胶在 $CaCl_2$ 溶液中继续浸泡 16 h,以确保完全凝胶

化;用蒸馏水冲洗上述水凝胶 3 次,以去除多余的 Ca^{2+};随后将复合水凝胶在 60 ℃干燥箱中干燥,即得 MWCNTs-SAL 复合颗粒,备用。

1.4　推杆式震荡型净化柱的制备

取一片筛板置于固相萃取柱底部,用打孔器在萃取柱柱管上端打一圆形孔,然后准确称量 50 mg MWCNTs-SAL 复合颗粒和 100 mg 无水 Na_2SO_4,填充至底端带有筛板的 3 mL 固相萃取柱中,最后向下推动固相萃取柱推杆至加样孔之下,推杆式震荡型净化柱制备完成。

1.5　样品制备

1.5.1　提取过程

将南美白对虾去壳,采集肌肉组织,进行均质处理后,于-20 ℃保存。实验前,取出待测虾肌肉样品,恢复至室温,称取 2.5 g 虾肌肉样品于 50 mL 离心管中,加入 10 mL 乙腈,涡旋振荡 10 min;随后向上述混合体系中先后加入 2 g 无水 Na_2SO_4 和 100 μL 乙酸,涡旋振荡 10 min;在 8 000 r/min 下离心 5 min,将上层溶液转移至 15 mL 离心管中,待净化。

1.5.2　净化过程

向上拉动推杆式震荡型净化柱的活塞至加样孔之上,使用移液枪将 1 mL 待净化提取液加入到柱管中,随后涡旋振荡 1 min,推动净化柱活塞,将净化后的提取液转移至进样瓶中,直接上机检测。

1.6　分析条件

1.6.1　色谱条件

色谱柱:C_{18} RRHD 色谱柱(150 mm×3.0 mm,1.8 μm);流动相:A 相为 0.2% 甲酸水溶液(含 5 mmol/L 乙酸铵),B 相为 0.2% 甲酸甲醇溶液,梯度洗脱,洗脱程序见表 1。进样量:5.0 μL;柱温箱温度:35 ℃。

1.6.2　质谱条件

离子源:电喷雾电离(ESI)源,多反应监测(MRM)模式;喷雾电压:4.5 kV;气帘气压力:0.21 MPa;雾化气压力:0.41 MPa;离子源温度:550.0 ℃;辅助气压力:0.38 MPa。其他质谱参数和保留时间等信息见表 2。

表 1　梯度洗脱程序

Table 1　Gradient elution procedure

Time/min	Flow rate/(mL/min)	φ(A)/%	φ(B)/%
0	0.4	95	5
1.0	0.4	95	5
3.0	0.4	80	20
8.0	0.4	50	50
19.0	0.4	5	95
23.0	0.4	5	95
23.1	0.4	95	5
27.0	0.4	95	5

A: 0.2% formic acid aqueous solution (containing 5 mmol/L ammonium acetate); B: 0.2% formic acid methanol.

2　结果与讨论

2.1　仪器分析条件的优化

由于本实验中 66 种目标农药的酸碱性质不同,采用正、负离子同时扫描的模式进行质谱分析。首先,对 66 种目标化合物进行全扫描,确认母离子;之后,对目标化合物的母离子进行产物离子扫描,筛选

表 2　66 种农药的保留时间和质谱参数

Table 2　Retention times and MS parameters of the 66 pesticides

No.	Compound	Classification	CAS No.	Molecular formula	Retention time/min	Parent ion (m/z)	Product ions (m/z)	DP/V	CEs/eV
1	methamidophos (甲胺磷)	organophosphates	10265-92-6	$C_2H_8NO_2PS$	4.91	142.0	94.0*, 125.0	57	19, 18
2	acephate (乙酰甲胺磷)	organophosphates	30560-19-1	$C_4H_{10}NO_3PS$	5.75	184.0	143.0*, 125.0	50	12, 25
3	omethoate (氧化乐果)	organophosphates	1113-02-6	$C_5H_{12}NO_4PS$	6.34	214.0	183.0*, 109.0	60	16, 36
4	propamocarb (霜霉威)	carbamates	24579-73-5	$C_9H_{20}N_2O_2$	6.42	189.2	102.1*, 74.1	70	24, 35
5	aldicarb-sulfoxide (涕灭威亚砜)	carbamates	1646-87-3	$C_7H_{14}N_2O_3S$	6.72	207.1	132.0*, 89.0	55	9, 20
6	aldicarb-sulfone (涕灭威砜)	carbamates	1646-8-4	$C_7H_{14}N_2O_4S$	7.14	240.1	148.0*, 166.1	30	17, 16
7	carbendazim (多菌灵)	imidazoles	10605-21-7	$C_9H_9N_3O_2$	7.92	192.1	160.1*, 132.1	80	25, 41
8	methomyl (灭多威)	carbamates	16752-7-5	$C_5H_{10}N_2O_2S$	7.93	163.1	88.0*, 106.0	38	12, 14
9	thiamethoxam (噻虫嗪)	neonicotinoids	153719-23-4	$C_8H_{10}ClN_5O_3S$	8.15	292.0	211.1*, 181.1	30	16, 30
10	imidacloprid (吡虫啉)	neonicotinoids	138261-41-3	$C_9H_{10}ClN_5O_2$	9.32	256.1	209.1*, 175.1	45	22, 27
11	clothianidin (可尼丁)	neonicotinoids	210880-92-5	$C_6H_8ClN_5O_2S$	9.46	250.0	132.0*, 169.1	35	21, 17
12	carbofuran-3-hydroxy (3-羟基克百威)	carbamates	16655-82-6	$C_{12}H_{15}NO_4$	10.03	238.1	181.1*, 163.1	70	16, 18
13	acetamiprid (啶虫脒)	neonicotinoids	135410-20-7	$C_{10}H_{11}ClN_4$	10.05	223.1	126.0*, 99.0	65	28, 60
14	dimethoate (乐果)	organophosphates	60-51-5	$C_5H_{12}NO_3PS_2$	10.07	230.0	125.0*, 199.0	56	29, 13
15	aldicarb (涕灭威)	carbamates	116-06-3	$C_7H_{14}N_2O_2S$	11.66	208.1	116.1*, 89.0	20	11, 25

表 2 （续）
Table 2 （Continued）

No.	Compound	Classification	CAS No.	Molecular formula	Retention time/min	Parent ion (m/z)	Product ions (m/z)	DP/V	CEs/eV
16	dichlorvos（敌敌畏）	organophosphates	62-73-7	$C_4H_7Cl_2O_4P$	12.77	221.0	109.0*, 127.0	70	23, 27
17	thiophanatemethyl（甲基托布津）	imidazoles	23564-05-8	$C_{12}H_{14}N_4O_4S_2$	12.80	343.1	151.0*, 311.0	60	26, 15
18	carbofuran（克百威）	carbamates	1563-6-2	$C_{12}H_{15}NO_3$	13.06	222.1	165.1*, 123.0	70	16, 29
19	fenthion-sulfoxide（倍硫磷亚砜）	organophosphates	3761-41-9	$C_{10}H_{15}O_4PS_2$	13.32	295.0	280.0*, 109.0	90	25, 45
20	fenthion-sulfone（倍硫磷砜）	organophosphates	3761-42-0	$C_{10}H_{15}O_5PS_2$	13.69	311.0	124.8*, 278.9	100	25, 23
21	phorate-sulfoxide（甲拌磷亚砜）	organophosphates	2588-3-6	$C_7H_{17}O_3PS_3$	14.28	277.0	199.0*, 153.0	25	13, 19
22	phorate-sulfone（甲拌磷砜）	organophosphates	2588-4-7	$C_7H_{17}O_4PS_3$	14.50	293.0	97.0*, 115.0	65	50, 35
23	isoprocarb（异丙威）	carbamates	2631-40-5	$C_{11}H_{15}NO_2$	14.59	194.1	95.1*, 137.1	57	19, 12
24	pyrimethanil（嘧霉胺）	phenylpyrazoles	53112-28-0	$C_{12}H_{13}N_3$	14.93	200.1	183.1*, 168.1	30	33, 40
25	forchlorfenuron（氯吡苯脲）	–	68157-60-8	$C_{12}H_{10}ClN_3O$	14.96	248.1	129.0*, 93.0	50	23, 47
26	methidathion（杀扑磷）	organophosphates	950-37-8	$C_6H_{11}N_2O_4PS_3$	15.31	303.0	145.0*, 85.0	59	13, 28
27	azoxystrobin（嘧菌酯）	strobilurin fungicides	131860-3-8	$C_{22}H_{17}N_3O_5$	15.85	404.1	372.1*, 344.1	80	20, 34
28	dimethomorph（烯酰吗啉）	amides fungicides	110488-70-5	$C_{21}H_{22}ClNO_4$	16.63	388.1	301.1*, 165.1	105	29, 43
29	malathion（马拉硫磷）	organophosphates	121-75-5	$C_{10}H_{19}O_6PS_2$	16.67	331.0	127.0*, 99.0	70	16, 32
30	myclobutanil（腈菌唑）	triazoles	88671-89-0	$C_{15}H_{17}ClN_4$	16.85	289.1	70.0*, 125.0	80	35, 46
31	triazophos（三唑磷）	organophosphates	24017-47-8	$C_{12}H_{16}N_3O_3PS$	17.02	314.1	162.1*, 119.1	80	24, 50
32	isazofos（氯唑磷）	organophosphates	42509-80-8	$C_9H_{17}ClN_3O_3PS$	17.10	316.0	164.0*, 122.0	70	23, 35
33	fipronil-desulfinyl（氟甲腈）	benzoylureas	205650-65-3	$C_{12}H_4Cl_2F_6N_4$	17.45	387.0	351.0*, 282.0	−30	−19, −47
34	epoxiconazole（氟环唑）	triazoles	133855-98-8	$C_{17}H_{13}ClFN_3O$	17.56	330.1	121.0*, 101.0	85	55, 70
35	ethoprophos（灭线磷）	organophosphates	13194-48-4	$C_8H_{19}O_2PS_2$	17.59	243.1	130.9*, 97.0	67	26, 43
36	fenbuconazole（腈苯唑）	triazoles	114369-43-6	$C_{19}H_{17}ClN_4$	17.63	337.1	125.0*, 70.0	95	42, 43
37	fipronil（氟虫腈）	benzoylureas	120068-37-3	$C_{12}H_4Cl_2F_6N_4OS$	17.77	434.9	330.0*, 250.0	−25	−24, −38
38	flusilazole（氟硅唑）	triazoles	85509-19-9	$C_{16}H_{15}F_2N_3Si$	17.79	316.1	247.1*, 165.1	50	26, 37
39	iprodione（异菌脲）	oxadiazines	36734-19-7	$C_{13}H_{13}Cl_2N_3O_3$	17.82	330.1	245.0*, 288.0	30	20, 18
40	fipronil-sulfide（氟虫腈亚砜）	benzoylureas	120067-83-6	$C_{12}H_4Cl_2F_6N_4S$	17.96	418.9	383.0*, 262.0	−20	−22, −35
41	prochloraz（咪鲜胺）	imidazoles	67747-09-5	$C_{15}H_{16}Cl_3N_3O_2$	18.23	376.2	308.0*, 266.0	20	15, 22
42	isofenphosmethyl（甲基异柳磷）	organophosphates	99675-03-3	$C_{14}H_{22}NO_4PS$	18.24	332.1	231.0*, 121.0	20	19, 43
43	isocarbophos（水胺硫磷）	organophosphates	24353-61-5	$C_{11}H_{16}NO_4PS$	18.24	231.0	121.0*, 109.0	100	26, 38
44	fipronil-sulfone（磺基氟虫腈）	benzoylureas	120068-36-2	$C_{12}H_4Cl_2F_6N_4O_2S$	18.27	450.9	414.9*, 282.0	−28	−26, −38
45	tebuconazole（戊唑醇）	triazoles	107534-96-3	$C_{16}H_{22}ClN_3O$	18.37	308.2	70.0*, 125.0	95	49, 47
46	fenthion（倍硫磷）	organophosphates	55-38-9	$C_{10}H_{15}O_3PS_2$	18.38	279.0	247.0*, 169.0	78	18, 23
47	famoxadone（噁唑菌酮）	oxazoles	131807-57-3	$C_{22}H_{18}N_2O_4$	18.44	392.2	331.1*, 238.1	45	12, 24
48	phoxim（辛硫磷）	organophosphates	14816-18-3	$C_{12}H_{15}N_2O_3PS$	18.70	299.1	129.0*, 153.0	55	18, 10
49	pyraclostrobin（百克敏）	strobilurin fungicides	175013-18-0	$C_{19}H_{18}ClN_3O_4$	18.71	388.1	194.1*, 163.1	50	18, 36
50	hexaconazole（己唑醇）	triazoles	79983-71-4	$C_{14}H_{17}Cl_2N_3O$	18.76	314.1	70.0*, 159.0	85	45, 40
51	phorate（甲拌磷）	organophosphates	298-02-2	$C_7H_{17}O_2PS_3$	18.96	261.0	75.0*, 47.0	51	21, 53
52	difenoconazole（苯醚甲环唑）	triazoles	119446-68-3	$C_{19}H_{17}Cl_2N_3O_3$	19.15	406.1	251.0*, 337.0	105	35, 24
53	(*E*)-diniconazole（(*E*)-烯唑醇）	triazoles	83657-24-3	$C_{15}H_{17}Cl_2N_3O$	19.15	326.1	70.0*, 159.0	105	60, 40
54	emamectin benzoate（甲氨基阿维菌素苯甲酸盐）	macrocyclic lactones	155569-91-8	$C_{56}H_{81}NO_{15}$	19.25	886.5	158.1*, 82.1	50	41, 110
55	trifloxystrobin（肟菌酯）	strobilurin fungicides	141517-21-7	$C_{20}H_{19}F_3N_2O_4$	19.33	409.1	186.1*, 145.0	40	23, 63
56	tolfenpyrad（唑虫酰胺）	amides fungicides	129558-76-5	$C_{21}H_{22}ClN_3O_2$	20.18	384.1	197.1*, 171.0	40	35, 33
57	fenpropathrin（甲氰菊酯）	pyrethroids	39515-41-8	$C_{22}H_{23}NO_3$	20.60	350.2	97.1*, 125.1	85	46, 23
58	chlorpyrifos（毒死蜱）	organophosphates	2921-8-2	$C_9H_{11}Cl_3NO_3PS$	20.61	349.9	197.9*, 97.0	75	28, 45
59	pendimethalin（二甲戊乐灵）	anilides fungicides	40487-42-1	$C_{13}H_{19}N_3O_4$	20.72	282.1	212.1*, 194.1	40	15, 28
60	etoxazole（乙螨唑）	–	153233-91-1	$C_{21}H_{23}F_2NO_2$	20.84	360.2	141.0*, 304.1	80	42, 25
61	propargite（克螨特）	organosulfurs	2312-35-8	$C_{19}H_{26}O_4S$	20.86	368.2	231.2*, 175.2	20	14, 21
62	(*E*)-fenpyroximate（(*E*)-唑螨酯）	benzoylphenylureas	134098-61-6	$C_{24}H_{27}N_3O_4$	21.18	422.2	135.0*, 336.1	90	43, 23
63	esfenvalerate（顺式氰戊菊酯）	carbamates	66230-04-4	$C_{25}H_{22}ClNO_3$	21.29	523.0	280.9*, 506.0	55	23, 16
64	fenvalerate（氰戊菊酯）	pyrethroids	51630-58-1	$C_{25}H_{22}ClNO_3$	21.41	437.2	167.1*, 125.0	30	19, 59
65	pyridaben（哒螨灵）	–	96489-71-3	$C_{19}H_{25}ClN_2OS$	21.64	365.1	309.1*, 147.1	77	17, 34
66	bifenthrin（联苯菊酯）	pyrethroids	82657-04-3	$C_{23}H_{22}ClF_3O_2$	22.65	440.2	181.1*, 166.1	40	22, 58

DP: declustering potential; CE: collision energy; * quantitative ion; –: unclassified.

特征碎片离子,选择响应强度最高的两个特征碎片离子分别作为定量离子和定性离子;最后,对定量和定性离子的去簇电压和碰撞能量等质谱参数进行优化,确定最优质谱条件,详见表 2。

在采用 0.2% 甲酸水溶液(含 5 mmol/L 乙酸铵)和 0.2% 甲酸甲醇溶液作为流动相的条件下,大部分目标化合物的色谱峰具有较高的响应强度且色谱峰分离度良好。在最佳仪器分析条件下,66 种目标化合物的总离子流色谱图见图 1。

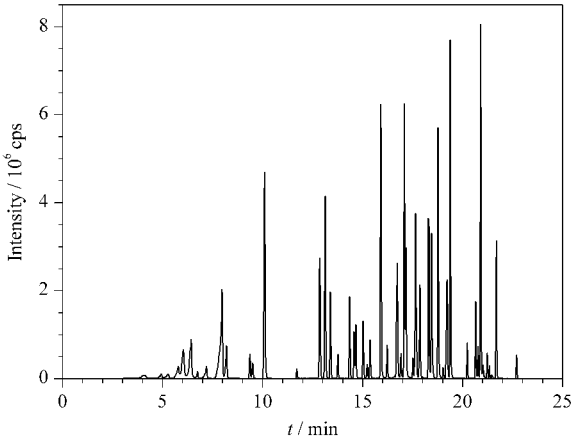

图 1　66 种农药混合标准溶液(5.0 μg/L)的总离子流色谱图

Fig. 1　Total ion chromatogram of the mixed standard solution of the 66 pesticides (5.0 μg/L)

2.2　MWCNTs-SAL 的表征

按照 1.3 节方法制备 MWCNTs-SAL, MWCNTs-SAL 复合颗粒的光学照片和扫描电镜图如图 2 所示。MWCNTs-SAL 复合颗粒的外观近似球形,直径约 1 mm(图 2a);由图 2b 可看出,MWCNTs 被均匀地包围在 SAL 网络中,证明了 MWCNTs-SAL 复合颗粒的成功制备。

2.3　样品前处理条件的优化

2.3.1　提取溶剂的选择

水产基质中含有大量的脂肪和蛋白质等干扰物质,将乙腈用作水产品中的农药提取溶剂时,不仅可以很好地提取目标农药,还能够有效沉淀蛋白质等干扰物质,因此乙腈是目前水产品农药提取过程中使用最多的有机溶剂[5]。本研究先使用乙腈对目标农药进行一次提取,之后加入乙酸进行二次提取,以提高酸性农药的提取效率,并进一步有效沉淀样品基质中的蛋白质。

2.3.2　净化材料的选择

为了保护色谱柱和质谱仪,本研究在上机前采

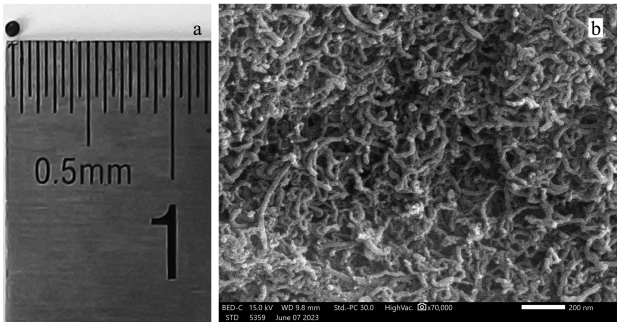

图 2　MWCNTs-SAL 的(a)光学照片和(b)扫描电镜图

Fig. 2　(a) Optical photo and (b) scanning electron microscopy image of multi-walled carbon nanotubes-sodium alginate (MWCNTs-SAL)

用推杆式震荡型净化柱对样品提取液进行净化。目前常用的净化材料有 C_{18}、PSA、中性氧化铝等。C_{18} 填料表面为疏水性的长链烷基基团,对提取液中的脂肪具有良好的吸附作用[12]; PSA 填料表面含有两个氨基,可通过离子交换作用去除提取液中的脂肪酸和有机酸等干扰物质;HLB 是亲水-亲脂平衡净化剂,其对脂肪、磷脂等干扰物质具有良好的吸附性。本文比较了不同净化材料对 66 种农药净化效果的影响,包括 C_{18}、PSA、HLB 和 MWCNTs-SAL(用量均为 50 mg),实验结果详见图 3。实验结果表明,当使用 MWCNTs-SAL 作为净化材料时,样品提取液的净化效果最好,大部分农药的回收率为 70%~110%,因此本实验最终选择 MWCNTs-SAL 作为净化材料。

2.3.3　净化材料用量的优化

本研究考察了不同用量(0、20、50、75、100、

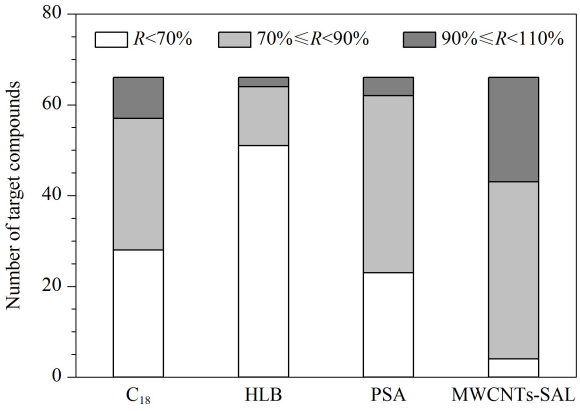

图 3　不同净化材料对 66 种农药净化效果的影响

Fig. 3　Effects of different purification materials on purification efficiencies of the 66 pesticides

R: recovery; C_{18}: octadecylsilane chemically bonded silica; PSA: ethylenediamine-*N*-propylsilane-silicagel; HLB: polystyrene-divinyl benzene sorbents.

125 mg)的 MWCNTs-SAL 对 66 种农药净化效果的影响,实验结果如图 4a 所示。结果表明,50 mg 的 MWCNTs-SAL 对 66 种目标化合物的净化效果最为理想。水产品基质中的水分会对质谱分析造成干扰,本实验在净化过程中加入无水 Na_2SO_4,以去除基质提取液中的水分,提高目标农药的提取效率。实验考察了不同用量(0、100、200、300、500 mg)的无水 Na_2SO_4 对 66 种目标化合物回收率的影响,结果如图 4b 所示。当使用 100 mg 无水 Na_2SO_4 时,回收率为 90%~110% 的目标化合物数量最多。因此,最终确定 MWCNTs-SAL 的用量为 50 mg,Na_2SO_4 的用量为 100 mg。

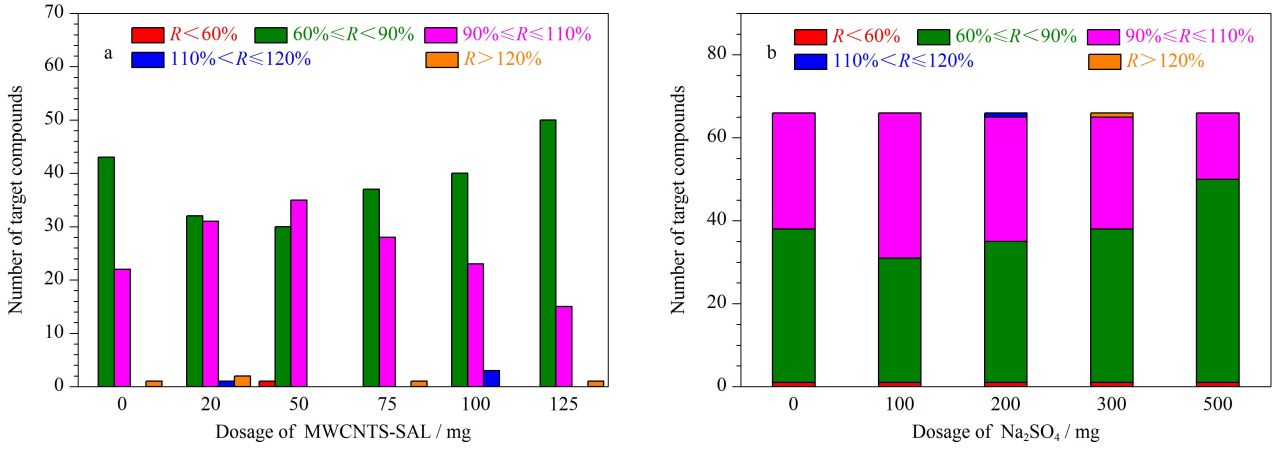

图 4 不同用量的(a)MWCNTs-SAL 和(b)Na_2SO_4 对 66 种农药净化效果的影响

Fig. 4 Effects of different dosages of (a) MWCNTs-SAL and (b) Na_2SO_4 on purification efficiencies of the 66 pesticides

2.4 基质效应

在质谱分析中,样品提取液中的干扰物质可能会影响目标化合物的质谱信号强度,产生基质效应(ME),从而影响目标化合物的定量结果。本研究对南美白对虾肌肉样品中 66 种农药的基质效应进行了评估。用空白样品基质提取液对 66 种农药的混合标准工作溶液进行稀释,配制成基质匹配混合标准溶液,根据 $ME=(Area_m/Area_s-1)\times100\%$ 来计算基质效应;其中,$Area_s$ 代表混合标准工作溶液的峰面积,$Area_m$ 代表相同质量浓度的基质匹配混合标准溶液的峰面积。实验结果表明,乙螨唑的 ME 为-20.3%,表现为中等基质抑制效应;其余 65 种农药的 ME 为-20%~20%,表现为弱基质效应。为了提高定量分析结果的准确性,本研究采用基质匹配标准曲线对南美白对虾样品中的 66 种农药进行定量分析。

2.5 方法学验证

2.5.1 线性方程、检出限和定量限

用空白样品基质提取液对 66 种农药的混合标准工作溶液进行稀释,配制成系列质量浓度(0.5、1、2、5、10、20、50 μg/L)的基质匹配混合标准溶液,上机检测。以目标化合物的质量浓度为横坐标(x,μg/L),峰面积为纵坐标(y),绘制基质匹配标准曲线。实验结果表明,66 种农药在 0.5~50 μg/L 内线性关系良好,相关系数(r)均大于 0.99;分别以信噪比(S/N)=3 和 S/N=10 计算检出限(LOD)和定量限(LOQ),结果详见表 3。66 种农药的 LOD 和 LOQ 分别为 0.5~1 μg/kg 和 1~2 μg/kg。以上实验结果说明,本方法具有较高的灵敏度。

2.5.2 回收率和精密度

按照 1.5 节方法对南美白对虾空白样品进行前处理后,分别添加低、中、高 3 个水平(2、10、20 μg/kg)的混合标准工作溶液,平行测定 6 次,计算加标回收率(n=6);计算回收率的相对标准偏差,得到日内精密度(n=6);连续测定 3 d,计算日间精密度(n=3),结果见表 3。实验结果表明,在 3 个加标水平下,66 种农药的加标回收率为 64.1%~107.3%,日内及日间精密度均小于 20.4%,说明该方法准确度高,重复性好,能够满足水产品中农药残留的检测需求。

2.6 实际样品的检测

利用本文所建方法对从北京市市场随机抽取的 15 份南美白对虾实际样品进行检测,结果表明,所有样品中均未检出 66 种目标农药残留。

表 3　66 种农药的检出限、定量限及其在 3 个加标水平下的加标回收率、日内和日间精密度

Table 3　Limits of detection (LODs), limits of quantification (LOQs) of the 66 pesticides and their spiked recoveries, intra- and inter-day RSDs under three spiked levels

No.	Compound	LOD/(μg/kg)	LOQ/(μg/kg)	2 μg/kg			10 μg/kg			20 μg/kg		
				Recovery*/%	Intra-day RSD*/%	Inter-day RSD#/%	Recovery*/%	Intra-day RSD*/%	Inter-day RSD#/%	Recovery*/%	Intra-day RSD*/%	Inter-day RSD#/%
1	methamidophos	1	2	91.0	2.4	5.6	84.1	3.2	6.2	92.3	4.7	4.7
2	acephate	0.5	2	79.9	2.3	6.2	88.4	2.2	4.1	82.9	6.7	6.7
3	omethoate	0.5	2	83.9	1.4	7.4	89.1	2.3	5.4	90.8	5.5	8.1
4	propamocarb	0.5	2	82.2	2.6	5.0	90.8	2.6	5.1	94.0	6.2	6.3
5	aldicarb-sulfoxide	0.5	1	81.0	6.5	7.8	89.7	2.7	4.2	100.2	7.1	11.6
6	aldicarb-sulfone	0.5	2	88.1	2.3	2.9	87.4	0.9	1.6	93.2	1.7	1.7
7	carbendazim	0.5	2	81.8	1.5	2.2	85.7	0.7	1.2	91.6	1.3	2.1
8	methomyl	0.5	2	84.6	1.9	2.2	89.3	1.4	3.7	98.3	2.6	6.5
9	thiamethoxam	0.5	2	80.0	2.0	4.3	89.4	0.7	5.5	89.9	1.1	3.3
10	imidacloprid	0.5	2	84.3	1.3	3.6	89.5	1.1	1.3	91.4	0.7	2.1
11	clothianidin	1	2	83.6	2.0	3.2	89.2	0.8	1.6	90.5	0.8	1.8
12	carbofuran-3-hydroxy	0.5	1	84.6	1.8	1.9	87.5	1.3	1.7	92.6	1.2	2.5
13	acetamiprid	0.5	2	86.2	1.1	1.2	89.7	1.0	1.5	92.0	1.2	2.6
14	dimethoate	0.5	2	85.4	0.9	1.9	90.1	1.2	1.1	91.3	0.9	1.2
15	aldicarb	0.5	2	83.9	1.6	2.8	88.8	2.2	3.3	96.2	2.2	5.7
16	dichlorvos	0.5	2	64.1	7.4	13.1	73.4	2.3	8.2	82.1	0.5	0.7
17	thiophanatemethyl	0.5	1	78.5	1.3	3.8	80.1	1.0	2.5	85.5	1.5	4.2
18	carbofuran	0.5	1	74.8	1.2	4.5	84.1	1.3	1.6	90.3	0.8	1.5
19	fenthion-sulfoxide	0.5	1	81.7	1.7	3.3	85.2	1.7	1.9	90.4	3.3	4.5
20	fenthion-sulfone	0.5	2	78.3	2.1	4.8	79.8	0.8	3.1	85.1	0.8	3.6
21	phorate-sulfoxide	0.5	2	84.0	1.8	2.5	85.8	1.6	1.9	92.2	1.1	2.2
22	phorate-sulfone	0.5	2	78.7	3.1	4.4	80.2	1.4	4.8	91.1	1.9	4.1
23	isoprocarb	0.5	2	74.4	2.1	4.8	83.8	1.6	1.9	89.7	0.7	1.0
24	pyrimethanil	0.5	2	75.5	4.0	4.7	84.1	2.1	2.5	89.3	1.6	1.6
25	forchlorfenuron	0.5	2	71.5	1.7	5.7	78.7	1.1	1.4	88.6	1.1	5.0
26	methidathion	0.5	2	80.3	1.6	2.9	81.0	1.5	2.9	87.5	0.7	2.0
27	azoxystrobin	0.5	1	71.1	1.4	5.7	71.3	1.7	5.9	90.8	1.1	7.4
28	dimethomorph	0.5	2	71.3	1.7	6.0	75.4	0.9	4.0	90.3	1.5	7.7
29	malathion	0.5	2	71.7	1.6	6.9	74.2	1.6	6.1	82.1	1.9	5.1
30	myclobutanil	0.5	2	70.9	3.7	7.9	77.3	2.1	2.8	81.3	1.6	5.2
31	triazophos	0.5	2	71.4	2.4	5.7	71.0	1.1	5.3	81.0	0.6	5.2
32	isazofos	0.5	2	71.9	1.5	5.2	74.1	2.0	5.5	79.7	1.4	6.2
33	fipronil-desulfinyl	0.5	2	70.1	6.3	11.1	78.5	14.3	11.4	90.6	3.4	14.3
34	epoxiconazole	0.5	2	72.4	3.7	5.1	76.5	2.7	5.0	94.4	2.0	8.7
35	ethoprophos	0.5	1	75.0	3.2	6.5	83.3	2.8	3.4	89.0	2.9	2.7
36	fenbuconazole	0.5	1	76.5	8.4	9.4	73.5	3.8	4.1	81.3	2.5	6.3
37	fipronil	0.5	2	80.5	12.8	12.3	88.4	7.7	10.7	92.6	3.0	16.7
38	flusilazole	0.5	2	70.5	3.9	9.1	75.3	1.6	3.4	92.0	2.2	9.8
39	iprodione	0.5	1	72.9	10.3	10.8	80.2	4.9	5.7	101.6	1.6	15.0
40	fipronil-sulfide	0.5	2	85.1	15.8	20.4	71.4	7.2	10.4	92.3	6.3	17.4
41	prochloraz	0.5	2	86.0	4.5	9.8	81.7	3.7	5.7	101.2	6.8	6.5
42	isofenphosmethyl	0.5	2	74.9	3.7	6.7	76.6	4.9	7.8	74.4	4.7	7.4
43	isocarbophos	0.5	2	72.2	2.3	5.9	70.4	2.4	8.9	76.2	4.4	11.2
44	fipronil-sulfone	0.5	2	70.7	3.6	6.0	79.3	11.0	11.0	97.5	3.1	18.7
45	tebuconazole	0.5	2	69.2	3.2	6.6	71.4	1.3	3.6	86.1	1.3	4.0
46	fenthion	0.5	2	74.5	4.7	7.4	73.8	2.7	6.4	76.1	1.3	8.4
47	famoxadone	0.5	2	72.9	6.2	8.5	77.1	2.0	2.6	92.2	1.6	14.0
48	phoxim	0.5	2	70.8	4.7	6.1	74.4	8.7	7.9	74.0	1.8	11.0
49	pyraclostrobin	0.5	2	72.9	3.7	5.9	71.1	1.6	5.9	93.3	3.3	15.0

表 3 （续）
Table 3 （Continued）

No.	Compound	LOD/ (μg/kg)	LOQ/ (μg/kg)	2 μg/kg			10 μg/kg			20 μg/kg		
				Recovery*/ %	Intra-day RSD*/%	Inter-day RSD#/%	Recovery*/ %	Intra-day RSD*/%	Inter-day RSD#/%	Recovery*/ %	Intra-day RSD*/%	Inter-day RSD#/%
50	hexaconazole	0.5	2	71.8	4.5	7.7	74.7	2.3	2.8	79.9	1.2	6.3
51	phorate	0.5	2	74.6	2.8	6.4	70.9	4.7	6.6	88.7	2.6	8.5
52	difenoconazole	0.5	2	70.4	2.4	7.7	71.0	1.3	6.1	75.5	1.3	8.2
53	(*E*)-diniconazole	0.5	1	78.3	6.8	8.4	71.0	1.5	4.8	94.9	2.2	10.2
54	emamectin benzoate	0.5	2	69.9	10.7	10.7	70.3	14.8	13.0	87.8	3.2	15.7
55	trifloxystrobin	0.5	1	72.0	8.3	7.9	73.3	8.7	7.0	92.8	1.4	15.5
56	tolfenpyrad	0.5	2	80.4	5.3	5.3	78.6	2.0	5.4	107.3	1.9	14.9
57	fenpropathrin	0.5	1	72.2	3.3	7.0	74.4	1.9	4.6	91.8	2.1	13.5
58	chlorpyrifos	0.5	1	71.4	4.1	7.8	77.0	2.8	4.9	80.1	4.7	11.5
59	pendimethalin	0.5	2	72.1	2.2	7.1	73.3	2.5	4.5	92.9	1.6	14.1
60	etoxazole	0.5	2	71.5	3.8	6.1	71.2	2.7	5.5	92.7	2.0	14.4
61	propargite	0.5	2	75.4	6.9	6.0	73.5	3.6	15.9	98.4	2.9	16.4
62	(*E*)-fenpyroximate	0.5	2	73.1	3.7	7.6	77.4	3.0	3.7	93.5	6.4	18.9
63	esfenvalerate	0.5	1	83.3	7.5	7.6	81.2	4.4	7.9	96.1	7.5	12.6
64	fenvalerate	0.5	2	72.3	12.0	14.2	76.0	6.2	9.8	101.6	6.8	7.9
65	pyridaben	0.5	2	73.5	11.0	12.3	81.4	10.4	18.0	94.4	2.9	11.9
66	bifenthrin	0.5	2	75.0	7.9	8.4	71.7	6.0	9.4	94.4	12.8	12.6

* $n=6$; # $n=3$.

3 结论

本研究基于 MWCNTs-SAL 复合净化材料和 HPLC-QTRAP-MS/MS 技术，建立了水产品中 66 种农药残留的快速分析方法。实验所制备的 MWCNTs-SAL 复合净化材料具有优异的净化性能，可以简便、快速地对水产品基质提取液进行净化处理。该方法方便快捷，经济高效，灵敏度高，重复性好，为药物残留检测方法开发、食用水产品中农药污染情况调查以及农药残留风险评估等方面提供了理论和技术支持。

参考文献：

[1] Eunjung K, Sihyun P, Hyunjin P, et al. Molecules, 2021, 26(9): 2575

[2] Wang S Y, Yang G X, Tang Y Y, et al. Foods, 2023, 12(6): 1131

[3] Wang C X, Huang F, Wang M, et al. Chinese Journal of Chromatography, 2013, 31(3): 206
王传现, 黄帆, 王敏, 等. 色谱, 2013, 31(3): 206

[4] Zhang Y, Qiao H, Chen C, et al. Food Chem, 2016, 192: 612

[5] Guo Y G, Zhang J, Xu J, et al. J Agric Food Chem, 2021, 69(25): 7199

[6] Gosetti F, Mazzucco E, Zampieri D, et al. J Chromatogr A, 2010, 1217(25): 3929

[7] Qin Y H, Huang B Y, Zhang J R, et al. J Sep Sci, 2016, 39(9): 1757

[8] Ma L L, Zhao L W, Wang J Q, et al. J Chromatogr Sci, 2020, 58(2): 109

[9] Zou N, Chen R H, Qin Y H, et al. J Sep Sci, 2016, 39(18): 3638

[10] Song L, Zeng W B, Li A, et al. Food Control, 2022, 131: 108436

[11] Meng Z J, Li Q, Cong J H, et al. Foods, 2021, 10(7): 1651

[12] Mu S H, Wang C Y, Liu H, et al. Biomed Chromatogr, 2021, 35(10): e5176

[13] Zhou R D, Mu S H, Feng T, et al. J Food Compos Anal, 2022, 109: 104506

[14] Dong X Q, Lan T, Tian X, et al. J Environ Sci Heal B, 2021, 56(8): 771

[15] Wang J, Wu T, Wang X Q, et al. Chinese Journal of Chromatography, 2023, 41(4): 330
王娇, 吴桐, 王新全, 等. 色谱, 2023, 41(4): 330

[16] Tu X T, Yang H B, Guo F, et al. Chinese Journal of Analytical Chemistry, 2021, 49(4): 528
涂祥婷, 杨鸿波, 郭峰, 等. 分析化学, 2021, 49(4): 528