

· 研究论文 ·

食品分析水平测试计划农药残留能力验证中 分析方法的选择及其结果评价

郑征伟, 苗水, 毛秀红, 陆继伟, 王柯, 季申*

(上海市食品药品检验所 中药天然药物室, 上海 201203)

摘要:通过确认可靠的分析方法和手段,对 FAPAS(食品分析水平测试计划)能力验证样品中的农药组份进行了定性及定量检测。首先通过色-质联用技术对样品中可能含有的农药组份进行快速定性筛选,确定目标化合物,再综合考虑样品中干扰物的主要成分和目标化合物的特性,运用合适的前处理技术和检测方法对目标化合物进行定量分析。在 6 项 FAPAS 能力验证中,所有参数的 |Z| 值均小于 2,结果均为满意。

关键词:食品分析水平测试计划;能力验证;农药;残留;分析;评价

DOI: 10.3969/j.issn.1008-7303.2011.03.14

中图分类号:O657.63

文献标志码:A

文章编号:1008-7303(2011)03-0293-06

Selection of the analytical methods and the results evaluation for the determination of pesticides residue in FAPAS proficiency tests

JIA Zheng-wei, MIAO Shui, MAO Xiu-hong, LU Ji-wei, WANG Ke, JI Shen*
(Department of Traditional Chinese Medicine, Shanghai Institute for Food and Drug Control, Shanghai 201203, China)

Abstract: Qualitative and quantitative analyses of pesticides residue in the samples of FAPAS (Food Analysis Performance Assessment Scheme) proficiency tests (PTs) were performed by identified and reliable analytical methods. Firstly, on-line chromatography and mass spectrometry was applied to screen the target compounds from a list of pesticides, and then the characteristics of the samples and the target compounds were evaluated in order to use an appropriate pre-processing technology and detection methods for quantitative analysis once the target pesticides were identified. The |Z| values of all the parameters in six FAPAS PTs were less than 2, and the results were satisfactory.

Key words: FAPAS; proficiency test; pesticide; residue; analysis; evaluation

能力验证是利用实验室间的比对来判定实验室或检测机构检测能力的一项活动,通过发放统一制作的测试样品给各个实验室进行测量,再将各自的测试结果进行统计分析,以各实验室结果的一致性

来判定实验室对于特定项目的检测能力,从而完善和提高实验室的质量管理体系,同时有助于提高实验室的科研水平和检测质量^[1]。

目前具备组织能力验证项目资格的机构主要有

收稿日期:2010-12-09;修回日期:2011-02-28.

作者简介:郑征伟(1979-),男,上海市人,硕士,主管药师,主要从事农药残留分析研究,电话:021-38839900-26126, E-mail: jiazhengwei1979@gmail.com; * 通讯作者(Author for correspondence):季申(1963-),女,江苏江阴人,博士,主任药师,主要从事中药有效性和安全性质量控制方法研究,电话:021-50798195, E-mail: jishen2008@gmail.com

英国分析化学标准实验室(LGC)、英国国家实验室(CSL)、美国环保局(USEPA)及中国合格评定国家认可委员会(CNAS)等,其中由CSL组织的食品分析水平评估计划(FAPAS)被全球食品分析实验室广泛采纳,已发展成为同类行业中的领先者。在2006-2009年间,笔者所在的上海市食品药品检验所参与完成了6项关于食品中农药残留分析的FAPAS能力验证,通过分析样品各自的性质,分别采用经验证为可靠的分析方法和手段,对样品中可能含有的农药组份进行了定性、定量分析,不但准确筛选出了添加的农药品种,而且定量结果经FAPAS评价,各参数的|Z|值均在满意的范围内。本文拟就这6项FAPAS能力验证的样品前处理及检测方法、测定结果等方面进行综合分析,讨论实验过程中分析及解决问题的思路与方法。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

Agilent 6890N 气相色谱仪(配火焰光度检测器及电子捕获检测器)、Agilent 6890N/5975B 气相色谱-质谱联用仪、Agilent 1200/6410 液相色谱-三重串联四极杆质谱仪(美国 Agilent 公司); Varian CP3800 气相色谱仪(配电子捕获检测器)及 Varian CP3800/1200L 气相色谱-三重串联四极杆质谱仪

(美国 Varian 公司); IKA T25 型均质器(德国 IKA 公司); LC-tech GPC 1122 型自动凝胶渗透色谱仪(德国 LC-tech 公司); BÜCHI R-210/215 型旋转蒸发器(瑞士 BÜCHI 公司); N-EVAPTM111 氮吹仪(美国 Organomation Associates 公司)。

农药标准品分别购于德国 Dr. Ehrenstorfer 公司、美国 Chem Service 公司和美国 Fluka 公司; 试剂甲醇、乙腈、甲酸为色谱纯,乙酸乙酯、环己烷、丙酮、甲苯纯度为农残级,无水硫酸钠、氯化钠为分析纯。

1.2 供试样品

苹果泥(1963)、茶叶(1964)、奶粉(0553)、梨子酱(1967)、氢化植物油(0562)和鸡肉酱(0565)均由 FAPAS 提供(括号内数值为项目编号)。

1.3 样品分析

FAPAS 要求参与能力验证的实验室根据样品和待测农药的特质,自行选择适当的前处理方法和检测技术。首先,根据待测农药列表建立初筛时的 GC-MS(气相色谱-质谱)或 LC-MS/MS(液相色谱-串联质谱)条件;其次,通过参阅国内外相关标准或文献,建立针对该样品的初筛前处理方法;待确定目标化合物后,再进一步优化前处理方法,对检出的农药进行准确定量。6项 FAPAS 能力验证的前处理方法、检测方法及参考文献见表 1。

表 1 6 项 FAPAS 能力验证的前处理方法、检测方法及参考文献

Table 1 The clean-up, detection methods and references of the six FAPAS proficiency tests

项目名称 Project name	提取方法 Extraction	净化方法 Clean-up	检测方法 Detection	参考文献 Reference
苹果泥(1963) Apple purée	乙酸乙酯-匀浆提取 Ethyl acetate-homogenization	SPE	GC-FPD、GC-ECD、 LC-MS/MS	[2-3]
茶叶(1964) Tea	丙酮-匀浆提取 Acetone-homogenization	GPC + SPE	GC-FPD、GC-ECD	[4-6]
梨子酱(1967) Pear purée	乙腈-匀浆提取 Acetonitrile-homogenization	SPE	GC-FPD、GC-ECD、 LC-MS/MS	[2, 7]
奶粉(0553) Milk powder	乙酸乙酯-超声提取 Ethyl acetate-ultrasonic extraction	Sulfonation	GC-ECD	[8]
氢化植物油(0562) Hydrogenated vegetable oil	乙酸乙酯-环己烷(1:1, 体积比)-直接溶解 Ethyl acetate-cyclohexane(1:1, V/V)-dissolved	GPC + Sulfonation	GC-ECD	[9-10]
鸡肉酱(0565) Minced chicken	乙酸乙酯-匀浆提取 Ethyl acetate-homogenization	GPC	GC-FPD、GC-ECD	[11]

2 结果与讨论

2.1 选择合适的前处理方法

FAPAS 组织关于食品中农药残留项目的检测

指标既有针对某一类农药品种的,如检测奶粉和氢化植物油样品中的 26 种有机氯类农药和多氯联苯类污染物残留;也有涵盖多种类型农药品种的,如苹果泥和茶叶样品中 58 种农药的定性、定量检测。考

虑到其添加的农药可能有 3~4 种, 因此首先要选取一种合适的多残留筛选方法, 该方法要求能涵盖所有待测的农药品种, 且在不漏筛的前提下尽量保证足够的检测灵敏度。由于初筛时一般以质谱为检测手段, 抗干扰能力相对较强, 因而对于净化手段可以适当放宽。而一旦检测出了某种农药, 后续的方法就需更具针对性, 根据具体情况优化前处理方法, 以回收率为保证, 排除影响定量结果准确性的干扰物。可从以下两方面分析如何选取合适的前处理方法。

2.1.1 从待测样品角度考虑 根据样品类型选择合适的提取方法。水果和蔬菜类样品中水分占 70% 以上, 对提取方法的要求不是很高, 选择与水互溶的有机溶剂, 并增加水相的离子强度, 即可获得满意的提取效果。如 Luke 法^[12] 以丙酮作为提取溶剂、QuEChERS 法^[13] 采用乙腈剧烈振荡、或参照我国农业部 NY/T 761-2008 标准方法^[3] 以乙腈进行基质匀浆, 均能达到满意的提取效果。而对于固体或半固体样品的提取则要求相对较高, 其中加速溶剂萃取、微波辅助萃取和超临界流体萃取都是近年来比较通行的提取方法, 完全可以保证萃取效率, 此外基质匀浆也是不错的选择, 但重现性不如前三者。在固体或半固体样品提取前, 可加入适量的水, 浸泡后使提取溶剂更易渗入细胞组织, 从而将待测农药组份提取出来, 比如在提取茶叶样品中的农药时, 加入一定量的水可使提取效率明显提高^[14]。

样品提取完后需考虑去除提取液中含有的干扰组份。其中固体样品提取液的干扰组份相对较多, 对净化方法的要求更高, 如茶叶中的叶绿素、氯化植物油和鸡肉酱中的脂质等, 可采用凝胶渗透色谱方法去除。另外, 固相萃取技术作为一项成熟的方法也已广泛应用于残留分析领域^[15], 通过选取不同的填料, 达到提取、净化、富集等目的。相关报道不胜枚举, 在此不再赘述。

2.1.2 从待测农药角度考虑 根据农药的极性和类别选择合适的提取溶剂。对于极性较大且易溶于水的农药, 宜选用可与水互溶的极性溶剂, 如乙腈、丙酮。若样品含水量较多, 可通过盐析, 增加水相的离子强度使待测农药进入有机相; 若样品含水量少, 可加入适量的无水硫酸钠去除。对于极性较小的农药, 则可采用石油醚、乙酸乙酯提取。

一般在多残留检测中, 净化方法通常是针对干扰物的, 如固相萃取技术 (SPE) 主要通过吸附来排除干扰物, 一旦通过初筛确定了目标化合物, 净化方法就应更具有针对性。在奶粉样品中初筛出的 4 个

农药品种顺式氯丹、反式氯丹、PCB101 和 PCB118 均可用硫酸磺化, 采用该方法直接净化奶粉样品提取液, 获得了较好的效果, 明显降低了电子捕获检测的基质干扰, 提高了定量的准确性。对于一些可离子化的农药, 则可根据农药的酸碱性和 pKa 值, 选择相应的离子交换吸附剂以优化 SPE 的净化能力。由于初筛时需关注的农药品种较多, 因此只能将重点放在干扰物上, 主要采用一些非极性 (C₁₈、石墨炭黑) 或极性 (硅胶、弗罗里硅土) 作用力的填料来吸附杂质, 其作用力和选择性不如离子交换机理的吸附剂, 因而可用后者替代初筛时的固相萃取方法, 以达到更佳的净化效果, 减少对定量结果的干扰。此外, 针对不同的农药品种, 所采用的检测手段也不尽相同: GC-ECD、GC-FPD 可分别用于有机氯和有机磷类化合物的检测; 高效液相色谱 (HPLC) 辅以后衍生荧光检测器对于氨基甲酸酯类农药具有较高的灵敏度; 而色谱-质谱联用技术以其广泛的通用性, 在农药残留检测中的优势越来越明显, 尤其 LC-MS/MS 技术对于那些极性较大、热不稳定的农药的优势更为显著^[16], 灵敏度高且能获得准确的定量结果, 但缺点是基质效应明显, 需要准备空白基质以配制标准品溶液, 增加了工作量。

此外还有一些特殊情况需要具体分析, 区别对待。如在检测苹果泥样品的过程中, 初筛共检出 5 种农药, 除了 FAPAS 最终评价的 4 种外, 还发现了克菌丹, 但进一步定量分析后发现克菌丹的含量急剧下降, 且其活性较强, 一旦气相色谱的进样口有污染, 就会严重影响定量结果。另据文献报道^[17], 克菌丹在番茄样品上的残留量在 4 °C 下储存 7 d 后降低了 54%, 说明其稳定性较差。因而在递交报告时, 并未列出克菌丹的结果, 而是在备注中相应进行了说明, 并附上相关文献依据, 此做法得到了 FAPAS 的认同, 最后在该项能力验证中并未对克菌丹的检出结果进行评价。

2.2 如何确保检测结果的准确、可靠

2.2.1 选取适合的内标物 选取目标化合物的稳定同位素作为内标, 可以很好地消除前处理过程中由于目标物的损失而带来的误差。在目标物确定的情况下, 同位素内标是首选, 但由于同位素内标物价格过高, 限制了其在多残留检测领域的应用。此外, 也可选取与待测农药结构类似、色谱系统中无干扰的化合物作为内标, 如检测六六六、滴滴涕和多氯联苯类化合物时, 可在其同系物中选择一个作为内标, 其他如有机磷类、氨基甲酸酯类、拟除虫菊酯类农药

也都有不少结构类似的化合物可作为内标。对于同位素内标或者结构类似的内标化合物,可在样品提取步骤前进行添加;一般的内标物,如果只是为了减少进样误差,则在前处理的最后一步添加即可。

2.2.2 标准品的选取与配制 若条件允许,可准备2个来源或者同一来源不同批号的标准品,以确保标准品的稳定,同时可用于日常标准品稳定性的期间核查。优先选择固体状态的标准品,以获得较长的保存期限。所配制的高浓度标准品储备液需预先进行稳定性考察,而低浓度的标准品工作溶液建议临用时现配。在定量时可选用标准品单点法,前提是标准品浓度需与待测农药浓度接近;或者采用包含待测农药浓度的两点或多点校正曲线来进行定量。本研究中主要采用后一种方法定量。对于一些基质效应比较明显的检测手段,如LC-MS/MS,则应当以相应的空白样品来配制基质标准品工作溶液,该空白样品建议向FAPAS购买,确保空白样品和待测样品同源,同时还可用于添加回收率试验。

2.2.3 测定结果与回收率校正 FAPAS在评价各实验室上报的结果时,不会用相应的回收率数据加以校正,但回收率数据必须在70%~120%之间,其上报的检测结果才可被纳入总体均值的计算。也就是说,所选方法的提取效率高、内标物合适、净化手段损失少,回收率会越接近100%,测定结果也就更接近FAPAS的添加真值。然而兼顾各实验室的情况,有的测定值可能会略高于总体均值,产生正偏

差,但由于总体均值上下浮动40%~45%的值均在满意的范围内,因而上述结果的 $|Z|$ 值仍会小于2,对测定结果无需刻意用回收率进行校正。

2.2.4 其他 还有一些细节问题也应注意。比如收到能力验证样品后,要严格按照样品的储存条件进行放置;FAPAS提供的样品一般在50~100g左右,从初筛到定量要经过多次实验,因而每次的取样量不宜过大,含水量高的样品应在10g左右,而固体样品通常应控制在5g以下,以保证有足够的样品量进行多次实验,同时确保取样的代表性;检测方法的回收率必须在70%~120%之间,每个未检出的参数都必须提供检测限数据;递交结果的期限为收到样品后的1个月内;等等。

2.3 结果评价与分析

表2列出了笔者所参加的6项FAPAS能力验证的测定结果、 $|Z|$ 值及满意率。FAPAS对于每一个能力验证项目,都会给出一份总结报告,其中包括待测样品中添加的农药品种和添加值,各实验室测定的结果、总体均值、 $|Z|$ 值、满意率等信息。对于报告的内容,实验工作者往往更关心的是自己的检测数据是否落在满意的范围内,即 $|Z|$ 值是否小于2,而容易忽略了报告中的其他内容,如每个参加能力验证的实验室所选用的前处理方法、检测手段,特别是那些 $|Z|$ 值落在满意范围内的实验室,它们的这些数据更具参考价值。

表2 6项FAPAS能力验证的汇总结果、 $|Z|$ 值及满意率

Table 2 The summary results Z values and satisfaction of the six FAPAS proficiency tests

项目名称 Project name	检出农药 Analyte	添加值 Spiked value/ ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	测定结果 Result/ ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	总体均值 Assigned value/ ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	$ Z $ 值 Z -score	单项满意率 Satisfactory / %	参与实验 室数量 Number of participants	总体满意率 Satisfactory / %
苹果泥(1963) Apple purée	毒虫畏 chlorfenvinphos	80	82.2	74.3	0.5	81	98	41
	<i>p p'</i> -滴滴伊	200	186.6	164	0.7	76		
	<i>p p'</i> -DDE							
	灭蚜蜚 mecarbam	100	90.9	80.4	0.6	85		
	克菌丹 captan	300	-	-	-	未作评价 No assessment		
茶叶(1964) Tea	<i>p p'</i> -滴滴滴	250	195.7	204	-0.2	67	54	35
	<i>p p'</i> -DDD							
	<i>p p'</i> -滴滴涕	200	163.6	160	0.1	47		
	<i>p p'</i> -DDT							
	乙硫磷 ethion	500	313.8	332	-0.3	71		
	五氯硝基苯 quintozene	150	94.9	94.0	0.0	69		

续表(Continued)

项目名称 Project name	检出农药 Analyte	添加值 Spiked value/ ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	测定结果 Result/ ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	总体均值 Assigned value/ ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	Z 值 Z-score	单项满意率 Satisfactory / %	参与实验 室数量 Number of participants	总体满意率 Satisfactory / %
梨子酱(1967) Pear purée	二嗪磷 diazinon	200	138.16	130	0.3	76	62	40
	噻菌胺 mepanipyrim	100	70.81	78.7	-0.5	86		
	甲苯氟磺胺 tolyfluanid	350	237.95	210	0.7	51		
奶粉(0553) Milk powder	顺式-氯丹 <i>cis</i> -chlordane	-	33.52	31.1	0.3	82	62	45
	反式-氯丹 <i>trans</i> -chlordane	-	40.98	36.9	0.5	78		
	多氯联苯 101 PCB 101	60.07	50.4	0.9	81			
	多氯联苯 118 PCB 118	-	67.36	59.3	0.6	86		
氢化植物油(0562) Hydrogenated vegetable oil	α -六六六 alpha-HCH	90	84.1	74.7	0.6	97	39	46
	六氯苯 HCB	120	108.5	84.0	1.3	75		
	氧化氯丹 oxy-chlordane	150	148.8	123	0.9	93		
鸡肉酱(0565) Minced chicken	艾氏剂 aldrin	150	136.8	108	1.2	73	34	21
	毒死蜱 chlorpyrifos	50	47.5	51.3	-0.3	65		
	γ -六六六 gamma-HCH	80	68.9	60.7	0.6	72		
	多氯联苯 101 PCB 101	70	55.5	44.5	1.2	79		

另外,对于残留分析来说,|Z|值接近零并不代表检验结果更准确,正如之前所提及,回收率高的分析方法所获得的结果会更接近添加值而略高于总体均值。从表2中可以看出,苹果泥样品和氢化植物油样品的测定结果与FAPAS实际添加的农药质量分数非常接近,但|Z|值却有些偏高,因此|Z|值并非判定结果准确性的唯一标准。对选取的分析方法是否合理、测定结果是否接近添加真值,以及如何正确认识偏差产生的原因等进行分析,汲取经验,提高检测水平,才是实验的目的。

3 结论

目前国内的残留检测方法参差不齐,缺乏一定的系统性。面对如此多的分析方法,实验工作者往往无所适从。相比之下,一些国外的检测方法,像美国的PAM(农药分析手册)、德国的S19方法等,都有着很好的参考价值,从基质和目标化合物的角度

出发,分别提供了不同的解决途径,但由于方法起草时间较早,一些前处理手段和检测技术尚有待更新。本研究以FAPAS能力验证实验为例,通过对待测样品和检测指标的综合分析,选择更具针对性的样品分析方法,获得了令人满意的结果,为探索建立系统性的残留分析方法奠定了一定的基础。

参考文献:

- [1] ZHANG Zhi-xian(张志贤), ZHANG Rui-gao(张瑞镐). 分析实验室的水平测试和质量监督[J]. *Chemical Standardization and Quality Control* (化工标准化与质量监督), 1997(3): 19-24.
- [2] ZHENG Shen-xi(郑申西), KE Hua(柯华), LIU Qiao(刘巧), et al. 应用GC-MS/MS技术检测水果蔬菜中22种残留农药[J]. *Journal of Instrumental Analysis* (分析测试学报) 2007, 26(Suppl.): 259-261.
- [3] NY/T 761-2008. Pesticide multiresidue screen methods for determination of organophosphorus pesticide, organochlorine

- pesticides , pyrethroid pesticides and carbamate pesticides in vegetables and fruits(蔬菜和水果中有机磷、有机氯、拟除虫菊酯和氨基甲酸酯类农药多残留检测方法) [S]. Beijing(北京): China Agriculture Press(中国农业出版社) 2008.
- [4] USP32-NF27. The United States Pharmacopeia (USP) and the National Formulary (NF) [S]. United States of America 2009: 187 - 189.
- [5] German Research Foundation. LMBG 00. 00 34 S19. DFG method S19-modular multiple analytical method for determination of pesticide residues in foodstuffs[S]. 1999.
- [6] ZHAO Qiong-hui(赵琼晖), JIN Bao-hui(靳保辉), XIE Li-qi(谢丽琪) *et al.* 气相色谱-质谱法测定茶叶中的 25 种有机氯农药残留[J]. *Chinese J Chromatogr(色谱)*, 2006, 24(11): 629 - 632.
- [7] ŠTAJNBAHER D, ZUPANČIČ-KRALJ L. Multiresidue method for determination of 90 pesticides in fresh fruits and vegetables using solid-phase extraction and gas chromatography-mass spectrometry [J]. *J Chromatogr A* 2003, 1015: 185 - 198.
- [8] LIN Zhu-guang(林竹光), CHEN Mei-yu(陈美瑜), ZHANG Li-li(张莉莉) *et al.* 气相色谱-负离子化学源质谱法分析牛奶饮品和奶粉中 19 种有机磷农药残留[J]. *J Instrum Anal(分析测试学报)* 2007, 26(3): 331 - 334.
- [9] PATEL K, FUSSELL R J, HETMANSKI M *et al.* Evaluation of gas chromatography-tandem quadrupole mass spectrometry for the determination of organochlorine pesticides in fats and oils [J]. *J Chromatogr A* 2005, 1068: 289 - 296.
- [10] GARCÍA SÁNCHEZ A, RAMOS MARTOS N, BALLESTEROS E. Multiresidue analysis of pesticides in olive oil by gel permeation chromatography followed by gas chromatography-tandem mass-spectrometric determination [J]. *Analytica Chimica Acta* 2006, 558: 53 - 61.
- [11] PANG G F, CAO Y H, ZHANG J J *et al.* Validation study on 660 pesticide residues in animal tissues by gel permeation chromatography cleanup/gas chromatography-mass spectrometry and liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *J Chromatogr A* 2006, 1125: 1 - 30.
- [12] LUKE M, FROBERG J E, MASUMOTO H T. Extraction and cleanup of organochlorine, organophosphate, organonitrogen, and hydrocarbon pesticides in produce for determination by gas-liquid chromatography [J]. *J AOAC Int*, 1975, 58: 1020 - 1026.
- [13] ANASTASSIADES M, LEHOTAY S J, ŠTAJNBAHER D *et al.* Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and “Dispersive Solid-Phase Extraction” for the determination of pesticide residues in produce [J]. *J AOAC Int* 2003, 86: 412 - 431.
- [14] LUKE M A, DOOSE G M. A modification of the Luke multiresidue procedure for low moisture, nonfatty products [J]. *Bull Environm Contam Toxicol*, 1983, 30: 110 - 116.
- [15] CHEN Xiao-hua(陈小华), WANG Qun-jie(汪群杰). The Technology and Application of Solid Phase Extraction (固相萃取技术与应用) [M]. Beijing(北京): Science Press(科学出版社) 2009.
- [16] ALDER L, GREULICH K, KEMPE G *et al.* Residue analysis of 500 high priority pesticides: better by GC-MS or LC-MS/MS? [J]. *Mass Spectrometry Reviews* 2006, 25: 838 - 865.
- [17] CENGİZ M F, CERTEL M, KARAKA S B *et al.* Residue contents of captan and procymidone applied on tomatoes grown in greenhouses and their reduction by duration of a pre-harvest interval and post-harvest culinary applications [J]. *Food Chemistry* 2007, 100: 1611 - 1619.

(责任编辑: 唐 静)