

气相色谱-四级杆飞行时间质谱分析烟草中 184 种农药残留

尹锐^{1,2}, 孙鹏¹, 于卫松¹, 孙惠青¹, 鲁世军¹, 王允白¹, 曹建敏^{1*}

(1. 中国农业科学院烟草研究所, 青岛 266101; 2. 中国农业科学院研究生院, 北京 100081)

摘要: 采用滤头式固相萃取前处理方法, 结合气相色谱-四级杆飞行时间质谱 (GC-QTOF/MS) 检测技术, 建立了烟草中 184 种农药残留的快速筛查和定量测定方法。通过单因素结合 Box-Behnken 响应面优化试验考察了溶剂用量, 加水量及净化量对目标农药回收率的影响。最终确定了烟草样品最佳前处理方法为, 15 mL 乙腈提取, 震荡离心后移取 1 mL 上清液通过 Cleanert NANO 净化柱净化, 平行浓缩近干后, 以 0.5 mL 丙酮-正己烷 (1/1, V/V) 进行溶剂置换, GC-QTOF/MS 进行检测。结果表明, 184 种农药在范围内线性关系良好; 在 0.05、0.25、0.5 $\mu\text{g/g}$ 添加水平下, 除部分农药回收率较低外, 平均回收率分别为 62.05%~122.19%、65.18%~120.21% 和 68.55%~119.41%; 相对标准偏差 (RSD) 范围分别为 0.16%~14.04%、0.15%~12.06% 和 0.03%~14.92% ($n=3$); 在 0.05、0.1、0.5 $\mu\text{g/g}$ 添加浓度下, 定性筛查软件检出农药的比例分别为 71.74%、92.39% 和 98.91%。该方法操作简便, 耗时短, 准确性好, 能够满足烟草中多农药残留定性和定量检测的要求, 具有实际应用价值。

关键词: 滤头式固相萃取; 气相色谱-四级杆飞行时间质谱; 响应面法; 烟草; 农药残留

中图分类号: TS41*1

文章编号: 1007-5119 (2018) 06-0079-12

DOI: 10.13496/j.issn.1007-5119.2018.06.012

Determination of 184 Pesticide Residues in Tobacco by Gas Chromatography-Quadrupole Time of Flight Mass Spectrometry

YIN Rui^{1,2}, SUN Peng¹, YU Weisong¹, SUN Huiqing¹, LU Shijun¹, WANG Yunbai¹, CAO Jianmin^{1*}

(1. Institute of Tobacco Research of CAAS, Qingdao 266101, China; 2. Graduate School of CAAS, Beijing 100081, China)

Abstract: An analytical method for rapid screening of 184 pesticide residues in tobacco was established based on filter solid phase extraction method by gas chromatography-quadrupole time of flight mass spectrometry (GC-QTOF/MS). Single factor examination combined with the Box-Behnken response surface analysis experiments was used to investigate the effects of solvent volume, water volume and purification volume on the recovery of target pesticides. The optimal sample preparation procedure was as follows: the tobacco sample was extracted with 15 mL acetonitrile. After shaking and centrifugation, 1 mL supernatant was cleaned up by Cleanert NANO purification columns. After dried by parallel concentrator, the extract residues were reconstituted with n-hexane-acetone(1/1,V/V) and then detected by GC-QTOF/MS. The linearity of the method was good. At the addition levels of 0.05, 0.25 and 0.5 $\mu\text{g/g}$, the average recovery rates were 62.05% to 122.19%, 65.18% to 120.21% and 68.55% to 119.41%, except for some pesticides. The relative standard deviation (RSD) were 0.16% to 14.04%, 0.15% to 12.06% and 0.03% to 14.92% ($n=3$). At the addition levels of 0.05, 0.25 and 0.5 $\mu\text{g/g}$, the proportion of pesticides detected by the workflow software was 71.74%, 92.39% and 98.91%, respectively. The convenient, rapid and accurate method can be applied for qualitative and quantitative detection of multiple pesticide residues in tobacco.

Keywords: filter solid phase extraction; gas chromatography-quadrupole time of flight mass (GC-QTOF/MS); response surface methodology; tobacco; pesticide residues

近年来, 由于化学农药的滥用, 农药残留问题已经成为影响农产品质量安全的一个重要因素。烟丝中的农药残留在卷烟抽吸过程中, 会以一定的迁

移率转移到烟气中或发生化学反应, 产生新的有害物质^[1-2], 因此烟草农药残留问题一直是烟草行业乃至社会关注的焦点。许多国家及国际组织均对烟草

基金项目: 中国农业科学院科技创新工程 (ASTIP-TRIC06); 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项 (1610232016008)

作者简介: 尹锐 (1994-), 男, 研究生, 研究方向: 烟草质量安全与风险评估理论与技术研究。E-mail: yinruiyancao@163.com

*通信作者, E-mail: caojianmin@caas.cn

收稿日期: 2018-08-24

修回日期: 2018-12-12

中农药残留制定了最大残留限量 (MRL) 法规, 例如国际烟草科学研究合作中心 (CORESTA) 在 2016 版“烟用农药指导性残留限量指南”中规定了 106 种农药及其代谢物的指导限量标准^[3], 而中国烟草总公司也在 2014 年发布了我国“烟叶农药最大残留限量标准”, 规定了烟叶中 123 种农药的最大残留限量^[4]。

对于多残留分析, 检测技术是影响其发展的主要制约因素, 现有烟草农药多残留检测技术主要以气相色谱-质谱联用法^[5-8]和液相色谱-质谱法^[9-11]为主, 均以目标化合物数据采集为基础, 在组分筛查鉴定前需要大量的方法设置和优化, 仅支持靶标农药的检测, 此外受仪器扫描速度及分辨率的限制, 高通量的检测仍具有一定的局限性。而基于高分辨质谱技术的飞行时间质谱可采集更全面的化合物信息, 能够对设定扫描质量范围内的所有物质进行测定, 无需预先编辑质谱采集方法, 扫描效率高, 理论上同时扫描的目标物数量无上限, 可在短时间内对大量目标化合物进行分析, 同时实现未知化合物的定性筛查。近年来, 色谱与高分辨质谱联用技术已成为化合物定性筛查的有效手段, 在水果、蔬菜多农残筛查工作中已经取得了一定的进展^[12-15]。

烟草样品基质复杂, 含有较多的色素、萜类、生物碱、黄酮和香豆素等干扰物质^[16-17], 因此对前处理过程提出了更高的要求。现有多农药残留的净化方法主要基于 QuEChERS^[5,8,18]和固相萃取 (SPE) 技术^[6,19-21]。SPE 技术在处理基质较为复杂的样品方面表现出了明显的优势, 净化效果较好, 定量更为准确, 但步骤稍显繁琐费时。而 QuEChERS 技术以其操作步骤简便、耗时短, 消耗化学试剂少等特点, 在处理大批量样品时具有明显的优势, 但去除基质干扰的能力有限, 对仪器造成了一定的污染。本文采用的滤头式固相萃取净化柱是一种新型的 SPE 柱, 可以免去常规固相萃取净化方法的活化和淋洗步骤, 大大减少样品前处理时间, 主要填料 Cleanert NANO 是一种新型碳纳米管材料, 其表面

键合的特殊官能团增加了对脂肪酸和色素等干扰物的选择性, 同时由于层状中空结构的特征, 材料的附载能力得以增加。2016 年薛亚薇等^[22]采用 Cleanert NANO 作为净化剂, 建立了无需标准品对照定性筛查茶叶中 26 种高毒剧毒农药的液相色谱-四级杆飞行时间质谱检测方法。2017 年李春苗等^[23]采用 Cleanert NANO 与乙二胺基-N-丙基 (PSA), C₁₈ 作为分散固相萃取吸附剂, 建立了一种对半夏中 322 种农药及化学污染物残留的气相色谱-四级杆飞行时间质谱 (GC-QTOF/MS) 检测方法。但以 Cleanert NANO 作为吸附剂的滤头式 SPE 应用于烟草中多种农药残留量的检测尚未见报道。

本文以滤头式 SPE 前处理方法为基础, 184 种农药作为目标化合物, 考察了提取溶剂用量、加水量及净化量对目标农药回收率的影响, 结合气相色谱-四级杆/飞行时间质谱的高通量、高灵敏度、高定性能力, 建立了烟草中 184 种农药的快速筛查和定量检测方法。

1 试验部分

1.1 仪器与试剂

安捷伦 7200 GC-QTOF/MS (安捷伦科技公司, 美国); 真空离心浓缩仪 (赫西仪器装备有限公司, 湖南); 涡旋振荡器 (Heidolph 公司, 德国)。

乙腈 (分析纯, 国药集团化学试剂有限公司); 丙酮、正己烷 (色谱纯, 上海安谱实验科技股份有限公司); Cleanert NANO 净化柱 (博纳艾杰尔科技有限公司, 天津); 50 mL 塑料离心管; 固体农药标准品购自德国 Dr. Ehrenstorfer 公司, 纯度大于 95%; 液体农药标准品及灭蚊灵标准品购自农业部环境保护所 (天津)。各农药标准品用丙酮-正己烷 (1/1, V/V) 配制成 1000 mg/L 单标溶液, 根据每种农药的化学性质和保留时间分为 A、B、C 三组, 分别配制成 5.0 mg/L 的混合标准储备液, 以空白基质溶液稀释配制成 0.01~0.8 mg/L 的基质匹配标准溶液。184 种农药的名称、保留时间见表 1。

表 1 184 种农药的保留时间 (RT)、决定系数(r^2)、回收率和定量限Table 1 Retention times, coefficients of determination(r^2), limits of quantitation (LOQs) and recovery of 184 pesticides

| 农药 Pesticides | 保留时间 RT/min | 决定系数 r^2 | 定量限 LOQ/ ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) | 回收率 Recovery/% | | |
|-------------------------------------|----------------|------------|---|----------------------|----------------------|---------------------|
| | | | | 添加水平 Spiked | 添加水平 Spiked | 添加水平 Spiked |
| | | | | 0.05 $\mu\text{g/g}$ | 0.25 $\mu\text{g/g}$ | 0.5 $\mu\text{g/g}$ |
| 1,2-Dibromo-3-chloropropane (二溴氯丙烷) | 4.47 | 0.997 0 | 0.017 | 60.79 | 61.24 | 61.82 |
| Methamidophos (甲胺磷) | 5.89 | 0.999 1 | 0.012 | 73.68 | 71.31 | 73.68 |
| Dichlorvos (敌敌畏) | 6.19 | 0.997 1 | 0.013 | 72.76 | 70.21 | 72.28 |
| Disulfoton sulfoxide(乙拌磷亚砷) | 7.30 | 0.999 4 | 0.015 | 117.91 | 117.74 | 119.41 |
| Mevinphos(E)[速灭磷(E)] | 9.00 | 0.999 7 | 0.031 | 59.78 | 59.65 | 59.30 |
| Acephate(乙酰甲胺磷) | 9.10 | 0.997 4 | 0.041 | 50.83 | 55.82 | 58.94 |
| Mevinphos(Z)[速灭磷(Z)] | 9.17 | 0.998 4 | 0.038 | 47.02 | 55.14 | 55.83 |
| Pebulate(克草猛) | 9.62 | 0.995 0 | 0.026 | 86.62 | 87.89 | 82.79 |
| Methacrifos(虫螨畏) | 10.46 | 0.997 5 | 0.037 | 72.07 | 74.26 | 78.49 |
| Isoprocarb(异丙威) | 11.13 | 0.998 6 | 0.031 | 76.96 | 74.28 | 76.63 |
| Heptenophos (庚烯磷) | 11.90 | 0.998 9 | 0.034 | 80.40 | 83.52 | 86.89 |
| Omethoate (氧化乐果) | 12.16 | 0.998 6 | 0.045 | 62.05 | 65.18 | 68.55 |
| Thionazin(虫线磷) | 12.48 | 0.999 8 | 0.019 | 80.60 | 77.99 | 75.27 |
| Fenobucarb(仲丁威) | 12.51 | 0.998 9 | 0.009 | 77.05 | 79.22 | 80.78 |
| Propoxur(残杀威) | 12.58 | 0.998 7 | 0.010 | 81.56 | 79.71 | 72.93 |
| Demeton-O(内吸磷-O) | 12.61 | 0.998 4 | 0.045 | 71.05 | 76.83 | 73.40 |
| Demeton-S-methyl (甲基内吸磷) | 12.73 | 0.999 6 | 0.036 | 81.23 | 77.21 | 80.87 |
| Cycloate(环草敌) | 13.00 | 0.997 7 | 0.042 | 83.90 | 88.52 | 83.64 |
| Ethoprophos(灭线磷) | 13.01 | 0.999 7 | 0.033 | 83.49 | 82.39 | 76.73 |
| Naled (二溴磷) | 13.42 | 0.996 3 | 0.036 | 45.70 | 44.17 | 52.20 |
| Chlordimeform(杀虫脒) | 13.47 | 0.999 1 | 0.047 | 73.44 | 78.13 | 75.25 |
| Trifluralin (氟乐灵) | 13.95 | 0.995 3 | 0.022 | 94.99 | 92.62 | 92.39 |
| Benfluralin (乙丁氟灵) | 14.03 | 0.995 4 | 0.003 | 81.34 | 81.30 | 80.23 |
| Cadusafos(硫线磷) | 14.08 | 0.999 2 | 0.024 | 77.52 | 70.87 | 73.51 |
| Phorate(甲拌磷) | 14.22 | 0.995 4 | 0.038 | 71.54 | 70.63 | 86.44 |
| BHC-alpha(α -六六六) | 14.32 | 0.998 9 | 0.010 | 97.22 | 87.61 | 83.93 |
| Hexachlorobenzene (六氯苯) | 14.59 | 0.996 9 | 0.043 | 54.59 | 54.71 | 60.48 |
| Dicloran(氯硝胺) | 14.78 | 0.999 1 | 0.013 | 96.41 | 103.27 | 100.49 |
| Demeton-S(内吸磷-S) | 14.85 | 0.999 6 | 0.024 | 74.31 | 73.90 | 75.37 |
| Dimethoate(乐果) | 14.88 | 0.998 0 | 0.035 | 71.38 | 73.03 | 79.91 |
| Carbofuran(克百威) | 15.21 | 0.996 4 | 0.039 | 89.15 | 84.75 | 75.01 |
| Atrazine(莠去津) | 15.32 | 0.996 7 | 0.010 | 77.21 | 81.01 | 72.50 |
| BHC-beta(β -六六六) | 15.36 | 0.999 6 | 0.010 | 87.07 | 94.92 | 87.74 |
| Clomazone (异噁草酮) | 15.39 | 0.998 0 | 0.018 | 109.34 | 105.94 | 103.17 |
| BHC-gamma(林丹) | 15.58 | 0.998 5 | 0.010 | 100.98 | 105.19 | 103.50 |
| Quintozene(五氯硝基苯) | 15.67 | 0.999 1 | 0.025 | 76.96 | 74.18 | 76.92 |
| Terbufos (特丁硫磷) | 15.87 | 0.997 3 | 0.008 | 80.43 | 80.41 | 87.55 |
| Fonofos(地虫硫磷) | 15.94 | 0.998 6 | 0.018 | 87.54 | 81.12 | 74.71 |
| Phosphamidon(E)(磷胺(E)) | 16.33 | 0.998 6 | 0.036 | 75.61 | 71.62 | 77.80 |
| Diazinon(二嗪磷) | 16.42 | 0.999 7 | 0.013 | 73.26 | 79.54 | 76.09 |
| Disulfoton(乙拌磷) | 16.45 | 0.999 7 | 0.043 | 51.64 | 50.00 | 55.79 |
| BHC-delta(δ -六六六) | 16.52 | 0.995 5 | 0.009 | 89.11 | 95.26 | 86.62 |
| Chlorothalonil (百菌清) | 16.71 | 0.995 8 | 0.036 | 28.52 | 27.72 | 33.34 |
| Mexacarbate(兹克威) | 16.77 | 0.996 2 | 0.016 | 85.78 | 88.38 | 80.62 |
| Tefluthrin(七氟菊酯) | 16.88 | 0.996 3 | 0.025 | 122.19 | 117.87 | 85.14 |
| Isazofos(氯唑磷) | 16.89 | 0.997 2 | 0.011 | 78.94 | 82.98 | 86.79 |
| 3-Hydroxycarbofuran(3-羟基克百威) | 16.95 | 0.995 2 | 0.023 | 96.91 | 80.81 | 88.22 |
| Iprobenfos (异稻瘟净) | 17.14 | 0.998 9 | 0.004 | 72.16 | 72.95 | 80.86 |

表1 (续)
Table 1 (Continued)

| 农药 Pesticides | 保留时间 RT /min | 决定系数 r^2 | 定量限 LOQ/ ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) | 回收率 Recovery/% | | |
|------------------------------------|-----------------|------------|---|--|--|---|
| | | | | 添加水平 Spiked 0.05 $\mu\text{g}/\text{g}$ | 添加水平 Spiked 0.25 $\mu\text{g}/\text{g}$ | 添加水平 Spiked 0.5 $\mu\text{g}/\text{g}$ |
| Pirimicarb(抗蚜威) | 17.38 | 0.998 7 | 0.033 | 86.99 | 83.76 | 84.14 |
| Phosphamidon(Z)(磷胺(Z)) | 17.73 | 0.999 4 | 0.030 | 71.37 | 72.87 | 73.07 |
| Propanil(敌稗) | 17.73 | 0.997 5 | 0.020 | 66.02 | 71.50 | 78.36 |
| Acetochlor(乙草胺) | 17.96 | 0.998 9 | 0.050 | 88.05 | 92.95 | 87.03 |
| Parathion-methyl(甲基对硫磷) | 18.10 | 0.996 3 | 0.012 | 68.82 | 77.39 | 73.24 |
| Chlorpyrifos-methyl(甲基毒死蜱) | 18.11 | 0.998 3 | 0.024 | 65.71 | 69.36 | 73.52 |
| Vinclozolin(乙烯菌核利) | 18.12 | 0.999 8 | 0.048 | 97.19 | 89.96 | 99.81 |
| Carbaryl(甲萘威) | 18.27 | 0.996 8 | 0.063 | 90.30 | 103.07 | 86.93 |
| Tolclofos-methyl(甲基立枯磷) | 18.27 | 0.998 9 | 0.045 | 81.81 | 75.02 | 77.02 |
| Heptachlor(七氯) | 18.30 | 0.999 6 | 0.007 | 95.60 | 92.93 | 98.27 |
| Alachlor(甲草胺) | 18.42 | 0.999 7 | 0.020 | 91.42 | 96.60 | 92.32 |
| Prometryn(扑草净) | 18.62 | 0.999 8 | 0.007 | 92.28 | 86.23 | 90.93 |
| Metalaxyl(甲霜灵) | 18.64 | 0.996 7 | 0.031 | 89.76 | 82.97 | 84.68 |
| Fenchlorphos(皮蝇磷) | 18.66 | 0.999 7 | 0.015 | 91.59 | 86.30 | 85.09 |
| Demeton-S-methyl sulfone(虱吸磷) | 18.83 | 0.996 0 | 0.046 | 92.65 | 85.10 | 84.28 |
| Methiocarb(甲硫威) | 19.16 | 0.996 1 | 0.048 | 49.09 | 58.82 | 54.35 |
| Fenitrothion(杀螟硫磷) | 19.19 | 0.998 5 | 0.033 | 75.40 | 87.12 | 73.94 |
| Pirimiphos-methyl(甲基嘧啶磷) | 19.31 | 0.999 4 | 0.020 | 75.01 | 69.65 | 72.18 |
| Bromacil(除草定) | 19.31 | 0.999 6 | 0.009 | 70.98 | 71.74 | 74.95 |
| Aldrin(艾氏剂) | 19.59 | 0.999 5 | 0.024 | 96.68 | 95.62 | 97.17 |
| Malathion(马拉硫磷) | 19.65 | 0.998 6 | 0.025 | 79.31 | 80.48 | 79.53 |
| Phorate-sulfone(甲拌磷砒) | 19.77 | 0.995 7 | 0.028 | 79.82 | 78.04 | 81.46 |
| Metolachlor(异丙甲草胺) | 19.78 | 0.999 0 | 0.035 | 92.75 | 92.64 | 92.10 |
| Fenthion(倍硫磷) | 19.91 | 0.999 6 | 0.019 | 71.08 | 70.76 | 72.69 |
| Dicofol I(三氯杀螨醇) | 19.94 | 0.997 1 | 0.047 | 73.85 | 73.68 | 76.17 |
| Dicofol II(三氯杀螨醇) | 28.26 | 0.996 5 | 0.042 | 71.59 | 69.47 | 75.93 |
| Parathion(对硫磷) | 19.97 | 0.996 1 | 0.029 | 69.69 | 70.13 | 71.32 |
| Chlorpyrifos(毒死蜱) | 19.99 | 0.997 4 | 0.036 | 84.89 | 80.80 | 89.52 |
| Triadimefon(三唑酮) | 20.11 | 0.996 1 | 0.006 | 87.39 | 87.91 | 87.14 |
| Chlorthal-dimethyl(氯酞酸甲酯) | 20.15 | 0.999 2 | 0.031 | 114.44 | 111.22 | 105.30 |
| Dimetachlone(菌核净) | 20.22 | 0.999 6 | 0.071 | 70.83 | 71.79 | 70.14 |
| Isocarboxophos(水胺硫磷) | 20.25 | 0.998 8 | 0.037 | 71.87 | 72.47 | 71.30 |
| Thiamethoxam(噻虫嗪) | 20.53 | 0.998 7 | 0.018 | 72.35 | 85.59 | 87.05 |
| Bromophos(溴硫磷) | 20.60 | 0.999 1 | 0.027 | 70.04 | 72.61 | 75.02 |
| Butralin(仲丁灵) | 20.64 | 0.996 0 | 0.013 | 70.56 | 70.91 | 73.43 |
| Diphenamid(双苯酰草胺) | 20.66 | 0.997 7 | 0.039 | 92.47 | 93.44 | 92.99 |
| Isopropalin(异丙乐灵) | 20.95 | 0.995 7 | 0.031 | 115.86 | 102.95 | 101.45 |
| Oxychlorane(氧化氯丹) | 21.05 | 0.999 5 | 0.018 | 95.64 | 94.50 | 93.45 |
| trans-Chlorfenvinphos(毒虫畏-E) | 21.07 | 0.996 3 | 0.020 | 87.17 | 93.29 | 83.69 |
| Heptachlor epoxides-cis(环氧七氯-顺式) | 21.11 | 0.999 3 | 0.018 | 102.64 | 94.75 | 101.32 |
| Terbufos sulfone(特丁硫磷砒) | 21.17 | 0.997 0 | 0.004 | 75.99 | 76.64 | 74.09 |
| Pendimethalin(二甲戊灵) | 21.19 | 0.995 1 | 0.017 | 69.34 | 68.94 | 73.76 |
| Penconazole(戊菌唑) | 21.22 | 0.999 0 | 0.039 | 84.71 | 91.00 | 87.73 |
| Heptachlor epoxides-trans(环氧七氯-反式) | 21.28 | 0.998 2 | 0.017 | 98.91 | 99.68 | 94.20 |
| Captan(克菌丹) | 21.43 | 0.998 9 | 0.020 | 77.10 | 75.70 | 74.29 |
| cis-Chlorfenvinphos(毒虫畏-Z) | 21.47 | 0.998 0 | 0.036 | 75.78 | 74.62 | 75.10 |
| Isofenphos(异柳磷) | 21.57 | 0.995 7 | 0.053 | 68.40 | 69.89 | 74.48 |
| Quinalphos(喹硫磷) | 21.63 | 0.999 6 | 0.010 | 71.96 | 69.07 | 79.18 |

表 1 (续)
Table 1 (Continued)

| 农药 Pesticides | 保留时间 RT/min | 决定系数 r^2 | 定量限 LOQ/ ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) | 回收率 Recovery/% | | |
|---------------------------------|----------------|------------|---|--|--|---|
| | | | | 添加水平 Spiked 0.05 $\mu\text{g}/\text{g}$ | 添加水平 Spiked 0.25 $\mu\text{g}/\text{g}$ | 添加水平 Spiked 0.5 $\mu\text{g}/\text{g}$ |
| Triadimenol(三唑醇) | 21.64 | 0.997 5 | 0.044 | 78.99 | 75.81 | 76.64 |
| Phenthoate(稻丰散) | 21.66 | 0.996 7 | 0.046 | 101.18 | 102.23 | 104.25 |
| Folpet(灭菌丹) | 21.67 | 0.999 9 | 0.068 | 41.13 | 50.53 | 61.89 |
| Methoprene(烯虫酯) | 21.93 | 0.995 6 | 0.030 | 101.19 | 103.22 | 98.71 |
| Chlordane-trans(氯丹-反式) | 21.99 | 0.998 8 | 0.025 | 102.66 | 101.74 | 103.33 |
| Methidathion(杀扑磷) | 22.10 | 0.995 7 | 0.040 | 68.49 | 68.28 | 71.00 |
| o,p'-DDE(o,p'-DDE) | 22.25 | 0.995 5 | 0.012 | 110.88 | 108.02 | 99.12 |
| alpha-Endosulfan(α -硫丹) | 22.43 | 0.997 0 | 0.012 | 111.79 | 107.87 | 110.88 |
| Disulfoton-sulfone(乙拌磷磺) | 22.53 | 0.997 3 | 0.035 | 84.91 | 86.35 | 93.50 |
| Tetrachlorvinphos(杀虫畏) | 22.53 | 0.998 8 | 0.022 | 69.38 | 67.40 | 71.75 |
| Chlordane-cis(氯丹-顺式) | 22.56 | 0.997 5 | 0.023 | 98.39 | 99.33 | 97.82 |
| Mepanipyrim(噻菌胺) | 22.60 | 0.999 0 | 0.016 | 90.41 | 98.86 | 92.36 |
| Butachlor(丁草胺) | 22.70 | 0.999 0 | 0.046 | 109.04 | 120.21 | 112.00 |
| Flumetralin(氟节胺) | 22.75 | 0.999 5 | 0.039 | 85.02 | 88.66 | 85.29 |
| Napropamide(敌草胺) | 22.96 | 0.999 4 | 0.021 | 85.75 | 90.66 | 90.61 |
| Fenamiphos(苯线磷) | 22.98 | 0.999 0 | 0.031 | 72.48 | 69.18 | 76.13 |
| Hexaconazole(己唑醇) | 23.02 | 0.998 7 | 0.029 | 70.99 | 71.33 | 72.73 |
| Imazalil(抑霉唑) | 23.17 | 0.999 2 | 0.016 | 74.02 | 72.60 | 71.82 |
| Prothiofos(丙硫磷) | 23.19 | 0.999 0 | 0.041 | 71.15 | 70.95 | 72.21 |
| Isoprothiolane(稻瘟灵) | 23.25 | 0.996 1 | 0.007 | 119.18 | 111.01 | 114.51 |
| Profenofos(丙溴磷) | 23.31 | 0.998 1 | 0.039 | 96.52 | 94.64 | 92.31 |
| Dieldrin(狄氏剂) | 23.39 | 0.998 1 | 0.006 | 102.18 | 99.10 | 104.08 |
| p,p'-DDE(p,p'-DDE) | 23.42 | 0.999 3 | 0.006 | 87.12 | 82.22 | 79.66 |
| Uniconazole(烯效唑) | 23.44 | 0.999 4 | 0.044 | 69.92 | 70.06 | 76.73 |
| Pretilachlor(丙草胺) | 23.45 | 0.999 5 | 0.044 | 80.81 | 82.30 | 85.25 |
| Tribufos(脱叶磷) | 23.45 | 0.999 2 | 0.041 | 81.35 | 78.84 | 84.36 |
| o,p'-DDD(o,p'-DDD) | 23.72 | 0.998 6 | 0.008 | 109.13 | 110.69 | 105.08 |
| Myclobutanil(腈菌唑) | 23.73 | 0.996 1 | 0.031 | 69.62 | 75.90 | 76.26 |
| Buprofezin(噻嗪酮) | 23.83 | 0.995 4 | 0.027 | 100.29 | 102.62 | 105.69 |
| Bupirimate(乙嘧酚磺酸酯) | 24.01 | 0.999 2 | 0.021 | 79.16 | 79.17 | 79.91 |
| Kresoxim-methyl(醚菌酯) | 24.02 | 0.997 2 | 0.018 | 101.70 | 98.86 | 105.72 |
| Thifluzamide(噻呋酰胺) | 24.05 | 0.999 3 | 0.047 | 80.14 | 77.92 | 82.11 |
| Nitrofen(除草醚) | 24.17 | 0.998 0 | 0.010 | 75.35 | 76.81 | 76.63 |
| Endrin(异狄氏剂) | 24.17 | 0.999 9 | 0.010 | 87.46 | 82.80 | 83.21 |
| Isoxathion(噁唑啉) | 24.18 | 0.999 1 | 0.055 | 116.20 | 111.71 | 115.94 |
| Fluazifop-butyl(吡氟禾草灵) | 24.46 | 0.997 4 | 0.023 | 80.22 | 70.43 | 70.88 |
| beta-Endosulfan(β -硫丹) | 24.52 | 0.999 8 | 0.038 | 99.46 | 83.86 | 86.89 |
| Chlorobenzilate(乙酯杀螨醇) | 24.62 | 0.999 2 | 0.039 | 104.81 | 101.80 | 106.96 |
| Fensulfothion(丰索磷) | 24.78 | 0.999 5 | 0.030 | 69.85 | 72.86 | 79.90 |
| Fenthion sulfoxide(倍硫磷亚砷) | 24.79 | 0.998 8 | 0.044 | 71.34 | 68.09 | 74.84 |
| Aclonifen(苯草醚) | 24.94 | 0.997 0 | 0.027 | 88.14 | 93.58 | 86.35 |
| p,p'-DDD(p,p'-DDD) | 24.94 | 0.999 7 | 0.009 | 108.80 | 112.17 | 109.93 |
| Fenthion sulfone(倍硫磷磺) | 25.01 | 0.998 1 | 0.042 | 94.12 | 91.99 | 90.63 |
| o,p'-DDT(o,p'-DDT) | 25.04 | 0.999 4 | 0.006 | 99.29 | 94.81 | 93.79 |
| Oxadixyl(噁霜灵) | 25.11 | 0.999 3 | 0.039 | 77.15 | 74.04 | 79.89 |
| Ethion(乙硫磷) | 25.20 | 0.997 7 | 0.047 | 74.37 | 73.97 | 77.63 |
| Chlorthiophos(虫螨磷) | 25.30 | 0.996 6 | 0.042 | 72.64 | 72.87 | 74.20 |
| Triazophos(三唑磷) | 25.64 | 0.997 1 | 0.026 | 95.69 | 88.22 | 86.39 |
| Carbophenothion(三硫磷) | 25.89 | 0.997 3 | 0.031 | 70.64 | 74.26 | 73.42 |

表1 (续)
Table 1 (Continued)

| 农药 Pesticides | 保留时间 RT/min | 决定系数 r^2 | 定量限 LOQ/ ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) | 回收率 Recovery/% | | |
|-----------------------------|----------------|------------|---|-----------------------------|-----------------------------|----------------------------|
| | | | | 添加水平 Spiked | 添加水平 Spiked | 添加水平 Spiked |
| | | | | 0.05 $\mu\text{g}/\text{g}$ | 0.25 $\mu\text{g}/\text{g}$ | 0.5 $\mu\text{g}/\text{g}$ |
| Benalaxyl(苯霜灵) | 25.99 | 0.999 5 | 0.015 | 91.29 | 87.81 | 94.52 |
| Endosulfan sulfate(硫丹硫酸酯) | 26.08 | 0.998 4 | 0.012 | 88.07 | 83.18 | 90.44 |
| Propiconazole I(丙环唑) | 26.16 | 0.999 0 | 0.040 | 71.32 | 71.73 | 75.37 |
| Propiconazole II(丙环唑) | 26.38 | 0.998 2 | 0.042 | 71.99 | 71.77 | 72.53 |
| p,p'-DDT (p,p'-DDT) | 26.26 | 0.999 2 | 0.007 | 95.27 | 92.14 | 86.54 |
| Tebuconazole (戊唑醇) | 26.75 | 0.997 8 | 0.048 | 82.04 | 87.75 | 90.03 |
| Triphenyl phosphate(三苯基磷酸酯) | 27.04 | 0.999 4 | 0.013 | 72.46 | 74.19 | 72.84 |
| Piperonyl butoxide(增效醚) | 27.21 | 0.996 1 | 0.030 | 74.24 | 71.40 | 87.12 |
| Iprodione(异菌脲) | 27.80 | 0.997 0 | 0.031 | 113.85 | 108.85 | 105.34 |
| Fenamiphos sulfone (苯线磷砷) | 27.89 | 0.995 1 | 0.036 | 87.24 | 84.46 | 89.36 |
| Bromopropylate(溴螨酯) | 28.10 | 0.998 9 | 0.014 | 93.49 | 87.83 | 91.51 |
| Carbosulfan(丁硫克百威) | 28.13 | 0.998 7 | 0.034 | 74.74 | 65.88 | 71.43 |
| EPN(苯硫磷) | 28.14 | 0.999 3 | 0.017 | 76.93 | 74.28 | 88.13 |
| Chlorantraniliprole(氯虫苯甲酰胺) | 28.32 | 0.996 4 | 0.055 | 73.81 | 74.17 | 70.57 |
| Bifenthrin (联苯菊酯) | 28.33 | 0.997 6 | 0.012 | 105.64 | 105.29 | 98.17 |
| Methoxychlor(甲氧滴滴涕) | 28.38 | 0.999 8 | 0.009 | 87.22 | 82.91 | 87.36 |
| Fenamidone(咪唑菌酮) | 28.63 | 0.999 2 | 0.023 | 94.61 | 85.58 | 96.48 |
| Anilofos(莎稗磷) | 28.83 | 0.996 3 | 0.046 | 102.76 | 103.53 | 104.88 |
| Tetradifon(三氯杀螨砷) | 29.02 | 0.999 9 | 0.024 | 75.04 | 73.89 | 74.39 |
| Phosalone(伏杀硫磷) | 29.39 | 0.998 9 | 0.035 | 70.38 | 70.39 | 78.07 |
| Leptophos(溴苯磷) | 29.46 | 0.999 8 | 0.036 | 107.88 | 107.98 | 107.79 |
| Cyhalofop-butyl(氰氟草酯) | 29.83 | 0.999 2 | 0.012 | 77.76 | 80.18 | 78.50 |
| Cyhalothrin(高效氯氟氰菊酯) | 30.22 | 0.997 1 | 0.021 | 72.51 | 73.07 | 76.62 |
| Fenarimol(氯苯嘧啶醇) | 30.32 | 0.997 7 | 0.054 | 82.00 | 79.57 | 88.88 |
| Pyrazophos (吡菌磷) | 30.66 | 0.996 3 | 0.017 | 87.73 | 89.88 | 85.70 |
| Benfuracarb (丙硫克百威) | 30.79 | 0.998 6 | 0.018 | 87.20 | 81.82 | 86.79 |
| Bitertanol(联苯三唑醇) | 31.38 | 0.996 1 | 0.017 | 74.80 | 74.07 | 77.74 |
| Permethrin-cis (氯菊酯-顺式) | 31.59 | 0.996 6 | 0.010 | 79.13 | 79.04 | 87.61 |
| Permethrin-trans (氯菊酯-反式) | 31.86 | 0.997 6 | 0.011 | 70.75 | 73.89 | 76.12 |
| Boscalid(啶酰菌胺) | 33.36 | 0.998 2 | 0.043 | 83.75 | 87.41 | 87.58 |
| Quinalofop-p-ethyl(精喹禾灵) | 33.54 | 0.999 3 | 0.040 | 90.57 | 91.76 | 87.77 |
| Quinalofop-ethyl(喹禾灵) | 33.61 | 0.996 8 | 0.046 | 114.22 | 111.19 | 112.89 |
| Flucythrinate I(氟氰戊菊酯) | 33.81 | 0.999 0 | 0.025 | 96.71 | 101.29 | 102.10 |
| Flucythrinate II(氟氰戊菊酯) | 34.19 | 0.999 4 | 0.026 | 101.39 | 107.69 | 109.45 |
| Fenvalerate (氰戊菊酯) | 35.10 | 0.997 6 | 0.057 | 100.40 | 102.67 | 109.19 |
| Deltamethrin (溴氰菊酯) | 36.51 | 0.999 6 | 0.041 | 77.00 | 75.96 | 71.98 |
| Indoxacarb (茚虫威) | 36.51 | 0.998 2 | 0.042 | 85.02 | 84.71 | 84.86 |
| Dimethomorph(Z)(烯酰吗啉(Z)) | 37.02 | 0.995 7 | 0.053 | 71.82 | 77.78 | 76.79 |
| Dimethomorph(E)(烯酰吗啉(E)) | 37.09 | 0.996 0 | 0.059 | 76.22 | 73.18 | 78.44 |

1.2 前处理方法

1.2.1 样品前处理过程 称取 1.000 g 已粉碎的烟叶样品于 50 mL 具盖离心管中, 加入 100 μL 内标 (5.0 mg/L 灭蚁灵) 和 15 mL 乙腈, 置于旋涡混合振荡仪上以 2000 r/min 速率涡旋 10 min, 然后以 4000 r/min 离心 10 min, 待净化。将 NANO 净化管

与 2 mL 注射器针管串联, 取一定体积上清液置于注射器针管内, 用推杆缓慢压下, 流出液收集于 2 mL 离心管中, 于真空离心浓缩仪上 45 $^{\circ}\text{C}$ 减压浓缩, 加入 0.5 mL 丙酮-正己烷 (1/1, V/V) 复溶, 经 0.22 μm 有机系微孔滤膜过滤后, 待 GC-QTOF/MS 测定。

1.2.2 单因素试验 分别考察前处理过程中加水量(0、2、4、6、8 mL)、溶剂用量(5、10、15、20、25 mL)和净化量(0.4、0.8、1.2、1.6、2.0 mL)对目标农药回收率的影响。

1.2.3 Box-Behnken 试验设计 在单因素试验的基础上,针对3个影响目标农药回收率的主要因素:加水量、溶剂用量和净化量,采用 Design-Expert 8.0.6 软件进行 Box-Behnken 试验设计,试验设计见表2。

表2 烟草前处理过程的响应面设计因素及编码
Table 2 Factors and codes of the sample preparation procedure designed by Box-Behnken

| 因素 Factor | 编码 Code | 编码水平 Coding level | | |
|----------------------------|---------|-------------------|-----|-----|
| | | -1 | 0 | 1 |
| 加水量 Water volume/mL | A | 0 | 2 | 4 |
| 溶剂用量 Solvent volume/mL | B | 5 | 10 | 15 |
| 净化量 Purification volume/mL | C | 0.4 | 0.8 | 1.2 |

1.3 实验条件

1.3.1 色谱条件 色谱柱:两根 HP-5MS 超高惰性毛细管色谱柱(15 m×250 μm×0.25 μm)通过反吹系统串联;进样口温度:280 °C;程序升温:初始温度 60 °C,保持 1 min 后以 40 °C/min 速率升温至 120 °C,然后以 5 °C/min 速率升温至 310 °C,保持 5 min;不分流进样;载气:氦气(纯度为 99.999%),恒流模式,灭蚊灵用于进行保留时间锁定,适时调节色谱柱 1 和柱 2 流速;反吹:开始时间 40.5 min,压力 50 psi;自动进样,进样量为 1 μL。

1.3.2 质谱条件 离子源:EI;电离能 70 eV;离子源温度:280 °C;传输线温度:280 °C;溶剂延迟 4 min;数据扫描方式:TOF-Scan 全扫描,扫描范围 50~500 m/z ,采集速率 5 spectrum/s 模式 4 Ghz;采集软件:安捷伦 MassHunter 工作站。

2 结果与讨论

2.1 提取溶剂选择

本文考察的目标农药包含有机氯类、有机磷类和氨基甲酸酯类等多种类别,溶解性和极性差异较大的化合物,因此在保证提取效率的基础上,要求提取溶剂与目标农药间的溶解性好,渗透力强,提

取杂质少。目前农药多残留分析方法中,以乙腈,丙酮,乙酸乙酯以及丙酮-正己烷混合溶剂最为常用。

以 1.2.1 方法对烟草样品进行前处理,目标农药的加标回收率为指标,考察了乙腈,乙酸乙酯,以及丙酮-正己烷(1/1, V/V)作为提取溶剂的提取效果。不同溶剂得到的目标农药回收率范围见图1。结果表明,3种溶剂都有较好的提取效果。但乙酸乙酯为提取溶剂时,部分极性较大的有机磷农药的提取不完全,提取液中共存较多的脂类、蛋白质,不利于净化;而采用丙酮-正己烷(1/1, V/V)为提取溶剂,由于其非极性较强,导致提取的色素物质较多^[24-25],同时共存有脂类等物质,影响定性和定量的稳定性,仪器维护成本相应提高。乙腈提取的杂质较少,另外对一些拟除虫菊酯类农药和部分极性较强农药的提取效率较高^[26],因此,最终选择以乙腈为提取溶剂。

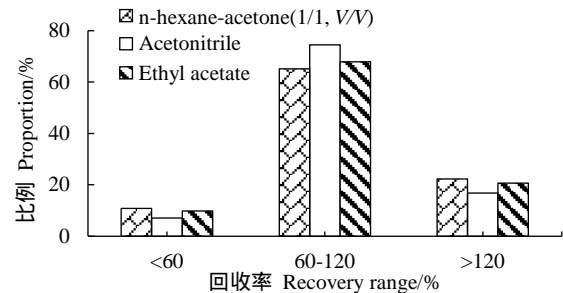


图1 不同提取溶剂下目标农药回收率

Fig. 1 Recovery range of pesticides extracted by different solvents

2.2 前处理方法优化

2.2.1 单因素试验 在各农药添加浓度为 0.5 μg/g 条件下,按 1.2.2 节设计各试验处理,并对各处理样品按 1.2.1 节方法进行前处理,计算各处理目标农药加标回收率在 60%~120% 范围内的比例,结果见图 2。从图 2 中可以看出,在固定其余两个因素的情况下,随着加水量的增加,范围内的农药比例呈现下降趋势;而溶剂用量与净化量对农药比例的影响均呈现先上升后下降的趋势。当加水量为 2 mL、溶剂用量 10 mL 和净化量 0.8 mL 时,接近各单因素的最大响应值,以此为基础,采用响应面设计对各参数进一步优化。

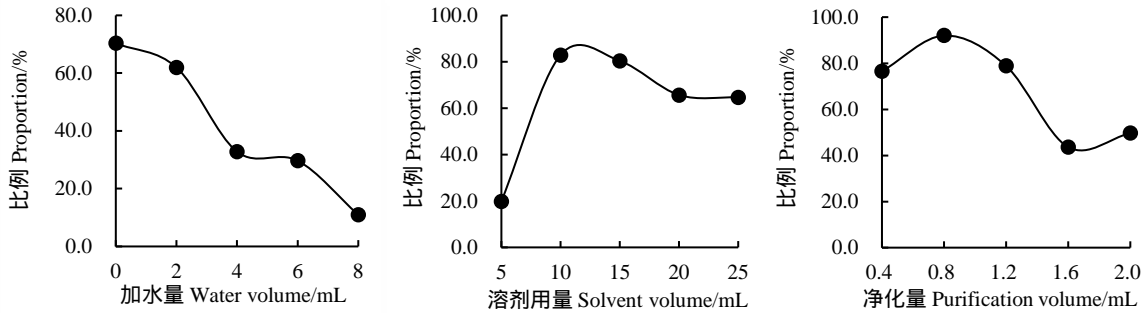


图2 加水量、溶剂用量和净化量对目标农药回收率的影响

Fig. 1 The effects of water volume, solvent volume and purification volume on the recovery of target pesticides

2.2.2 响应面优化试验 在单因素试验的基础上，选择加水量、溶剂用量和净化量为因素，每个因素设置3个水平，回收率在60%~120%范围内的农药比例(Y)为响应值，采用Box-Behnken试验设计建立数学模型，进行响应面优化试验。

应用Design-expert 8.0.6软件对数据进行分析，得到农药比例(Y)对各因素的回归方程 $Y=76.74-12.25A+17.43B+6.89C+4.20AB+4.14AC+2.80BC+1.44A^2-7.71B^2-9.78C^2$ 。结果表明，该模型影响极显著 ($P<0.01$)，且失拟项不显著 ($P=0.2568>0.05$)，

说明回归方程与实际拟合中非正常误差所占比例较小，决定系数 R^2 为 0.9872，表明模型相关度好；变异系数为 4.27%，说明实验稳定性良好。

方差分析结果显示，在所选各因素水平范围内，A、B、C、AB、AC、 B^2 、 C^2 的P值均小于0.05，说明以上因素对农药回收率有显著影响，其余因素影响不显著。本实验中各因素的主效应关系为溶剂用量>加水量>净化量。由回归方程绘制的响应面三维分析图见图3~5。

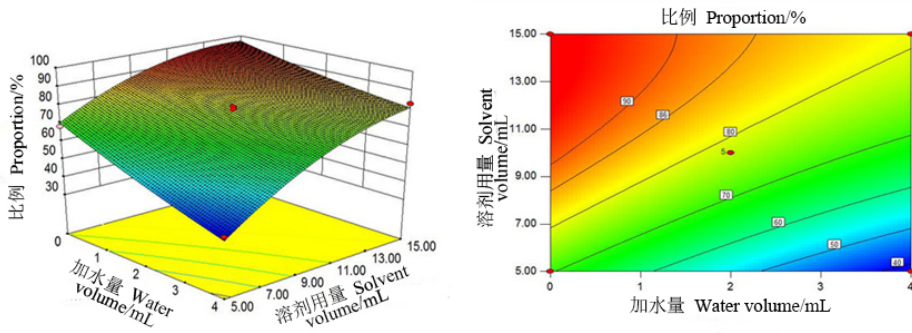


图3 净化量 0.8 mL 时 $R=f(A, B)$ 的响应面和等高线图

Fig. 3 Response surface and contour diagram of $R=f(A, B)$ with the situation of 0.8 mL purification volume

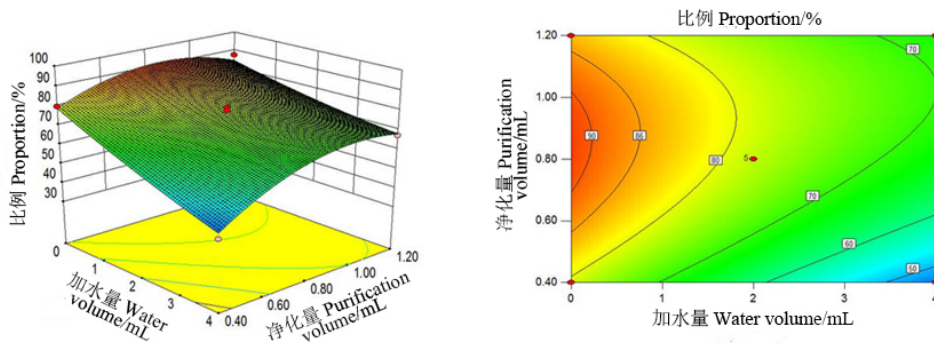


图4 溶剂用量 10 mL 时 $R=f(A, C)$ 的响应面和等高线图

Fig. 4 Response surface and contour diagram of $R=f(A, C)$ with the situation of 10 mL solvent volume

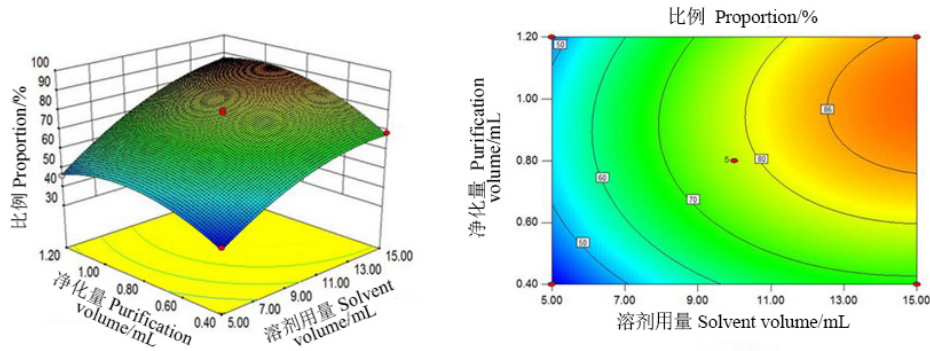


图 5 加水量 2 mL 时 $R=f(B, C)$ 时的响应面和等高线图

Fig. 5 Response surface and contour diagram of $R=f(B, C)$ with the situation of 2 mL water volume

结合回归模型的分析结果，烟草样品最优前处理过程参数为：加水量 0 mL，溶剂用量 14.53 mL，净化量 0.91 mL，在此条件下，60%~120% 范围内农药比例为 94.8%。结合实际情况，确定前处理过程参数为：加水量 0 mL，溶剂用量 15 mL，净化量 1 mL。在此条件下，农药比例为 94.5%，说明该模型可靠，前处理过程参数可靠。

2.3 基质效应

使用色谱法进行多种农药残留检测时，基质效应是影响检测结果准确性和重复性的重要因素。气相色谱系统中，大多数农药表现出不同程度的基质增强效应，一般认为是由于实际样品检测时，由于样品中的杂质分子与待测农药分子竞争进样口、柱头以及质谱系统的活性位点，从而使待测物与活性位点的反应机会减少，待测分子的损失减少，因此，相同含量的待测物在实际样品中要比在纯溶剂标样中的响应值高^[27-28]。本文比较了相同浓度下目标农药在纯溶剂和基质溶液中的峰面积，得到基质效应相对强度，基质效应 (ME) = 基质标准样品峰面积 / 溶剂标准样品峰面积。结果表明绝大多数的农药表现为基质增强效应，因此本文选择空白基质配制标准曲线来校正基质效应。

2.4 筛查方法建立与验证

在优化的色谱、质谱条件下，对 184 种农药分别进行全扫描，采集目标农药的高分辨质谱图，将其导入 Personal Compound Database and Library (PCDL) 软件中，输入每种农药的名称、保留时间、分子式、精确质量数、CAS 号以及结构式等信

息，建立 184 种农药化合物的精确质量数据库。在安捷伦 Masshunter Qualitative Analysis Workflows 定性筛查软件中，选择自建数据库，设定检索保留时间偏差为 ± 0.15 min，精确质量偏差为 $\pm 20 \times 10^{-6}$ ，最小合格碎片数量为 1 个，共流出匹配得分 70 分，按离子碎片信息进行自动检索，软件将依据保留时间、精确质量偏差、同位素峰分布和丰度比来计算每种化合物的实测值与谱库中理论值的偏差，并给出匹配得分。在筛查定性分析中，定性和定量离子比值是判断假阳性存在与否的重要参数，Workflows 软件中默认两者比例高于 75 分时合格，当共流出匹配得分满足要求，但定性、定量离子比值得分小于 75 分时，软件会给予警示，表示存在假阳性可能，此时需手动进行验证。

对 0.05、0.1、0.5 $\mu\text{g/g}$ 三个添加浓度的空白基质加标样品进行筛查验证，以匹配得分 70 分的最低浓度为筛查限。结果表明，71.74% 的农药筛查限为 0.05 $\mu\text{g/g}$ ，20.6% 的农药筛查限为 0.1 $\mu\text{g/g}$ ，6.5% 的农药筛查限为 0.5 $\mu\text{g/g}$ 。此外有 1% 左右的农药筛查限大于 0.5 $\mu\text{g/g}$ ，这两种农药分别为乙草胺或甲基对硫磷、莠去津或 β -六六六。筛查流程中，软件首先对总离子流色谱图进行积分，然后根据精确质量数进行组分识别。乙草胺和甲基对硫磷、莠去津和 β -六六六，这两对农药在色谱柱中未完全分离，积分时默认为一个组分，因此筛查过程中只识别了其中一种农药，导致出现假阴性结果。实际样品分析时，对于保留时间接近的农药，建议采用手动识别方法进一步进行确证。此外，实验中发现，仪器

的状态对部分有机磷农药如乙酰甲胺磷、甲胺磷、氧化乐果等组分影响较大。如果进样系统不太清洁,组分会降解和损失,导致色谱峰拖尾严重,影响定性、定量分析的准确性。

与已有文献报道相比^[23,29],本方法的筛查限偏高,主要是由于评价方法和前处理过程的差异引起的。上述文献在评价筛查限时,采用的是空白基质匹配混合标准溶液直接进样,而本实验是采用空白样品中添加不同浓度的农药混合标准溶液,经过前处理净化后进行检测,所得结果为方法筛查限,更符合实际样品的检测工作要求。由于本文中前处理过程中稀释比例较大,最终上机检测浓度相当于1 mL待测液中0.13 g烟末样品,实际样品筛查时,可通过增加浓缩倍数,以提高方法的筛查能力。

与传统的GC-MS/MS相比,GC-QTOF/MS在非靶向成分的筛查方面具有一定的优势,但在目标污染物的定量分析中,由于扫描模式的差异,在线性范围、检出限和定量限方面,与串联四级杆质谱仪仍存在一定的差距^[30],目标物浓度过低时易受干扰物质的影响,导致结果偏差;此外,飞行时间质谱技术自20世纪90年代突破技术瓶颈之后才得以快速发展和应用,发展时间较短,价格昂贵,一定程度上限制了该技术的研究和应用^[31]。未来随着技术的不断发展和研究的不断深入,GC-QTOF/MS在目标物定性筛查和未知物分析的突出优势将使其在农药残留分析方面的应用愈加广泛。

2.5 方法学验证

2.5.1 线性关系及检出限、定量限 按照1.1方法制作空白基质标准溶液,进行GC-QTOF/MS检测。以各农药与内标物峰面积的比值(y)与对应各农药与内标物的浓度比值(x)为参数,利用工作站软件绘制标准曲线。在10~800 $\mu\text{g/mL}$ 的线性范围内,方程决定系数结果见表1。所有农药线性关系良好,决定系数(r^2)均大于0.995。以 $S/N=3$ 和 $S/N=10$ 分别计算方法的检出限(LOD)和定量限(LOQ),定量限结果见表1。表1中各农药的定量限均低于CORASTA烟草农残限量(GRLs),方法适用于所述农药在烟草中的定量分析。

2.5.2 回收率与精密度 选取空白烟草样品,分别制成添加量为0.05、0.25、0.5 $\mu\text{g/g}$ 加标样品,每个添加水平平行3次。以1.2.1节方法进行前处理,1.3节条件进行测定,计算各农药平均回收率和相对标准偏差(RSD),回收率结果如表1所示。在3个添加浓度水平下,除二溴氯丙烷、乙酰甲胺磷、速灭磷、二溴磷、乙拌磷、灭菌丹、六氯苯、百菌清和甲硫威回收率较低外,其他农药的平均回收率分别为62.05%~122.19%、65.18%~120.21%和68.55%~119.41%,相对标准偏差分别为0.16%~14.04%、0.15%~12.06%和0.03%~14.92%($n=3$)。残留分析中,农药回收率的高低受农药自身的化学结构和填料类型影响较大,本文采用的改性碳纳米材料具有层状中空结构,在去除色素和平面结构杂质的同时,会对平面结构的农药产生吸附(如六氯苯、百菌清),导致其回收率降低。而二溴磷由于性质不稳定,通常其残留量以敌敌畏计^[4]。其他几种极性较强、稳定性差的农药,可通过使用酸化乙腈溶剂提高回收率。

2.6 实际样品的分析

采用建立的GC-QTOF/MS农药残留快速筛查确证技术对不同产地的9个烟草样品进行检测。每个样品均有农药残留检出,共检出筛查得分70分农药19项次,涉及农药8种。分别为仲丁灵、二甲戊灵、三唑醇、甲霜灵、戊菌唑、联苯菊酯、高效氯氟氰菊酯和氟节胺,分属于除草剂、杀菌剂、杀虫剂和植物生长调节剂。采用基质匹配校准曲线对检出的农药进行定量,结果表明8种农药均未超过CORASTA烟草农残限量推荐值。

3 结论

本文采用滤头式固相萃取技术作为净化方法,并利用Box-Behnken响应面法对净化方法进行优化,结合气相色谱-四级杆飞行时间质谱检测,建立了烟草中184种农药残留的快速筛查和定量测定方法。与串联四级杆质谱检测技术相比,虽然定量限稍高,但凭借建立的高分辨质谱数据库,结合TOF全扫描模式,利用筛查软件的自动检索功能,可以实现不

需标准品对照的农药残留高通量快速筛查，简化了繁琐的农药标准溶液配制过程，减少人力物力消耗，大大提高了工作效率。此外还可进一步扩展高分辨质谱数据库中农药的种类和数量，满足实际工作的需要。本方法为烟草中多种类农药残留的快速高通量筛查和检测工作提供了技术支持。

参考文献

- [1] GADDAMIDI V, ZIMMERMAN W T, PONTE M, et al. Pyrolysis of C-14-cloranthraniliprole in tobacco[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2011, 59(17): 9424-9432.
- [2] CAI J B, LIU B Z, ZHU X L, et al. Determination of pyrethroid residues in tobacco and cigarette smoke by capillary gas chromatography[J]. Journal of Chromatography A, 2002, 964(1-2): 205-211.
- [3] CORESTA. No.1-Agrochemical Guidance Residue Levels (GRLs)[EB/OL]. (2016-07-01) [2018-08-24]. <https://www.coresta.org/agrochemical-guidance-residue-levels-grls-29205.html>.
- [4] 中国烟草总公司. YQ50—2014 烟叶农药最大残留限量[S]. 北京：中国标准出版社，2014：1-5.
- CORPORATION C N T. YQ50—2014 Maximum residue limits for pesticides in tobacco[S]. Beijing: Standards Press of China, 2014: 1-5.
- [5] CHEN X S, BIAN Z Y, HOU H W, et al. Development and validation of a method for the determination of 159 pesticide residues in tobacco by gas chromatography-tandem mass spectrometry[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2013, 61(24): 5746-5757.
- [6] CAO J M, SUN N, YU W S, et al. Multiresidue determination of 114 multiclass pesticides in flue-cured tobacco by solid-phase extraction coupled with gas chromatography and tandem mass spectrometry[J]. Journal of Separation Science, 2016, 39(23): 4629-4636.
- [7] KHAN Z S, GIRAME R, UTTURE S C, et al. Rapid and sensitive multiresidue analysis of pesticides in tobacco using low pressure and traditional gas chromatography tandem mass spectrometry[J]. Journal of Chromatography A, 2015, 1418: 228-232.
- [8] 楼小华, 高川川, 朱文静, 等. PTV-GC-MS/MS 同时测定烟草中 202 种农药残留[J]. 烟草科技, 2013, 46(8): 45-57.
- LOU X H, GAO C C, ZHU W J, et al. Simultaneous determination of 202 pesticide residues in tobacco by PTV-gas chromatography tandem mass spectrometry[J]. Tobacco Science and Technology, 2013, 46(8): 45-57.
- [9] LI Y J, LU P, HU D Y, et al. Determination of dufulin residue in vegetables, rice, and tobacco using liquid chromatography with tandem mass spectrometry[J]. Journal of Aoac International, 2015, 98(6): 1739-1744.
- [10] 艾丹, 胡斌, 潘立宁, 等. 加速溶剂萃取-液相色谱-串联质谱法分析烟叶中的 92 种农药残留[J]. 烟草科技, 2014, 47(4): 79-87.
- AI D, HU B, PAN L N, et al. Determination of 92 pesticide residues in tobacco by accelerated solvent extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. Tobacco Science and Technology, 2014, 47(4): 79-87.
- [11] 朱文静, 高川川, 楼小华, 等. LC-MS/MS 快速测定烟草中 57 种农药残留[J]. 中国烟草学报, 2013, 19(2): 12-16.
- ZHU W J, GAO C C, LOU X H, et al. Rapid determination of 57 pesticide residues in tobacco leaves by LC-MS/MS[J]. Acta Tabacaria Sinica, 2013, 19(2): 12-16.
- [12] PORTOLES T, MOL J G J, SANCHO J V, et al. Validation of a qualitative screening method for pesticides in fruits and vegetables by gas chromatography quadrupole-time of flight mass spectrometry with atmospheric pressure chemical ionization[J]. Analytica Chimica Acta, 2014, 838: 76-85.
- [13] PANG G F, FAN C L, CHANG Q Y, et al. Screening of 485 pesticide residues in fruits and vegetables by liquid chromatography-quadrupole-time-of-flight mass spectrometry based on TOF accurate mass database and QTOF spectrum library[J]. Journal of Aoac International, 2018, 101(4): 1156-1182.
- [14] 绳慧珊, 张新忠, 王新茹, 等. 飞行时间质谱技术在水果、蔬菜与茶叶中农药残留分析中的应用[J]. 分析测试学报, 2018, 37(2): 139-153.
- SHENG H S, ZHANG X Z, WANG X R, et al. Applications of time of flight mass spectrometry in analysis on pesticide residues in fruits, vegetables and tea[J]. Journal of Instrumental Analysis, 2018, 37(2): 139-153.
- [15] 张建莹, 罗耀, 宫本宁, 等. 液相色谱-四极杆-飞行时间质谱法快速筛查苹果与生菜中 248 种农药残留[J]. 分析测试学报, 2018, 37(2): 154-164.
- ZHANG J Y, LUO Y, GONG B N, et al. Rapid screening and determination of 248 pesticide residues in apples and lettuces by liquid chromatography-quadrupole time-of-flight mass spectrometry[J]. Journal of Instrumental Analysis, 2018, 37(2): 154-164.
- [16] 刘旭强, 李军, 刘维娟, 等. 烟草蛋白质的利用及提取的研究进展[J]. 化工科技, 2014, 22(6): 67-70.
- LUI X Q, LI J, LIU W J, et al. Research progress on utilization and extraction of tobacco protein[J]. Science and Technology in Chemical Industry, 2014, 22(6): 67-70.
- [17] 杨彩艳, 莫丽娟, 孙佩玲. 烟草化学成分及生物活性研究现状[J]. 天然产物研究与开发, 2016, 28(10): 1657-1663, 1621.

- YANG C Y, MO L J, SUN P L. Review on chemical constituents and bioactivities of nicotiana tabacum[J]. Nat Prod Res Dev, 2016, 28(10): 1657-1663, 1621.
- [18] LI M L, JIN Y, LI H F, et al. Rapid determination of residual pesticides in tobacco by the quick, easy, cheap, effective, rugged, and safe sample pretreatment method coupled with LC-MS[J]. Journal of Separation Science, 2013, 36(15): 2522-2529.
- [19] MOHAMMADI S, DOMENO C, NERIN I, et al. Toxic compounds from tobacco in placenta samples analyzed by UPLC-QTOF-MS[J]. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2017, 145: 331-338.
- [20] 曹建敏, 邱军, 于卫松, 等. 固相萃取气相色谱-质谱联用法同时测定烟草中40种农药残留[J]. 分析试验室, 2012, 31(11): 24-29.
- CAO J M, QIU J, YU W S, et al. Simultaneous determination of 40 pesticide residues in tobacco by GC/MS with solid-phase extraction[J]. Chinese Journal of Analysis Laboratory, 2012, 31(11): 24-29.
- [21] 司晓喜, 陆舍铭, 刘志华, 等. 气相色谱-负化学电离源-飞行时间质谱测定烟草中有机氯农药残留[J]. 色谱, 2016, 34(3): 340-345.
- SI X X, LU S M, LIU Z H, et al. Determination of organochlorine pesticide residues in tobacco by gas chromatography-negative chemical ionization-time of flight mass spectrometry[J]. Chinese Journal of Chromatography, 2016, 34(3): 340-345.
- [22] 薛亚薇, 李春苗, 李建勋, 等. LC-Q-TOF/MS 快速筛查茶叶中26种高毒剧毒农药[J]. 分析试验室, 2016, 35(4): 394-397.
- XUE Y W, LI C M, LI J X, et al. Rapid determination of 26 high toxic and poisonous pesticides in tea by LC-Q-TOF/MS[J]. Chinese Journal of Analysis Laboratory, 2016, 35(4): 394-397.
- [23] 李春苗, 胡雪艳, 范春林, 等. GC-Q-TOF/MS 快速筛查测定半夏中322种农药及化学污染物残留[J]. 分析测试学报, 2017, 36(4): 431-448.
- LI C M, HU X Y, FAN C L, et al. Rapid screening and quantitative analysis of 322 pesticide residues in pinellia by gas chromatography-quadrupole time of flight mass spectrometry[J]. Journal of Instrumental Analysis, 2017, 36(4): 431-448.
- [24] 赵志远, 石志红, 康健, 等. 液相色谱-四极杆/飞行时间质谱快速筛查与确证苹果、番茄和甘蓝中的281种农药残留量[J]. 色谱, 2013, 31(4): 372-379.
- ZHAO Z Y, SHI Z H, KANG J, et al. Rapid screening and confirmation of 281 pesticide residues in apples, tomatoes and cabbages by liquid chromatography/quadrupole time-of-flight mass spectrometry[J]. Chinese Journal of Chromatography, 2013, 31(4): 372-379.
- [25] 李玮, 卢春山, 李华, 等. 气相色谱-串联质谱技术分析烟草中49种农药残留[J]. 色谱, 2010, 28(11): 1048-1055.
- LI W, LU C S, LI H, et al. Determination of 49 pesticide residues in tobacco by gas chromatography-tandem mass spectrometry[J]. Chinese Journal of Chromatography, 2010, 28(11): 1048-1055.
- [26] 陈晓水, 边照阳, 唐纲岭, 等. 气相色谱-串联质谱技术分析烟草中的132种农药残留[J]. 色谱, 2012, 30(10): 1043-1055.
- CHEN X S, BIAN Z Y, TANG G L, et al. Determination of 132 pesticide residues in tobacco by gas chromatography-tandem mass spectrometry[J]. Chinese Journal of Chromatography, 2012, 30(10): 1043-1055.
- [27] DE SOUSA F A, GUIDO COSTA A I, LOPES RIBEIRO DE QUEIROZ M E, et al. Evaluation of matrix effect on the GC response of eleven pesticides by PCA[J]. Food Chemistry, 2012, 135(1): 179-185.
- [28] KWON H, LEHOTAY S J, GEIS-ASTEGGIANTE L. Variability of matrix effects in liquid and gas chromatography-mass spectrometry analysis of pesticide residues after QuEChERS sample preparation of different food crops[J]. Journal of Chromatography A, 2012, 1270: 235-245.
- [29] HAKME E, LOZANO A, GOMEZ-RAMOS M M, et al. Non-target evaluation of contaminants in honey bees and pollen samples by gas chromatography time-of-flight mass spectrometry[J]. Chemosphere, 2017, 184: 1310-1319.
- [30] 曹新悦, 庞国芳, 金铃, 等. 气相色谱-四极杆-飞行时间质谱和气相色谱-串联质谱对水果、蔬菜中208种农药残留筛查确证能力的对比[J]. 色谱, 2015, 33(4): 389-396.
- CAO X Y, PANG G F, JIN L, et al. Comparison of the performances of gas chromatography-quadrupole time of flight mass spectrometry and gas chromatography-tandem mass spectrometry in rapid screening and confirmation of 208 pesticide residues in fruits and vegetables[J]. Chinese Journal of Chromatography, 2015, 33(4): 389-396.
- [31] 吕亮, 曹建涛, 王宝玲. 飞行时间质谱分析技术进展[J]. 广州化工, 2009, 37(8): 49-51.
- LU L, CAO J T, WANG B L. Progress on time of flight mass spectrometry technology[J]. Guangzhou Chemical Industry, 2009, 37(8): 49-51.