

◆ 残留与环境 ◆

QuEChERS结合液相色谱-质谱联用法 测定茶叶中5种农药残留

蔡鲁宁¹, 刘雪茹², 尹丽丽¹, 许蕤竹^{1*}

(1. 上海华测品标检测技术有限公司, 上海 201206 2. 上海美吉生物医药科技有限公司, 上海 201321)

摘要: 尝试分别建立QuEChERS结合超高效液相色谱法、液相色谱-质谱联用法测定茶叶基质中除虫脲等5种农药的残留。结果显示, 建立的QuEChERS结合超高效液相色谱法在测定茶叶中农药残留时出现杂质峰对目标峰的掩盖问题, 不能满足农药残留检测要求。采用建立的QuEChERS结合液相色谱-质谱联用法对茶叶中农药残留进行检测, 方法的线性相关系数大于0.995; 加标回收率为97.0%~111.9%, 相对标准偏差为2.3%~11.8%。除虫脲、灭幼脲、吡虫啉、多菌灵、抑芽丹的定量限分别为1.20、0.47、19.99、2.97、161.29 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。该方法满足农药残留检测要求, 且使用的QuEChERS前处理技术简单、便捷, 为实现茶叶复杂基质中的农药残留快速检测提供了一定的参考。

关键词: 液相色谱-质谱联用; QuEChERS; 农药残留; 茶叶; 检测

中图分类号: TQ 450.63 文献标志码: A doi: 10.3969/j.issn.1671-5284.2026.01.013

Determination of five pesticide residues in tea by QuEChERS combined with liquid chromatography-tandem mass spectrometry

CAI Luning¹, LIU Xueru², YIN Lili¹, XU Ruizhu^{1*}

(1. Shanghai CTI Product Label Testing Technology Co., Ltd., Shanghai 201206, China; 2. Shanghai Meiji Biomedical Technology Co., Ltd., Shanghai 201321, China)

Abstract: The methods of QuEChERS combined with ultra-performance liquid chromatography (UPLC) and liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) were developed for the determination of five pesticide residues in tea matrix. The results showed that the established method of QuEChERS combined with UPLC encountered the problem of impurity peaks masking the target peaks, and failed to meet the requirements for the determination of pesticide residues. The pesticide residues in tea were detected by the established QuEChERS combined with LC-MS/MS, the linear correlation coefficients were all greater than 0.995. The recoveries were 97.0%-111.9%, and the relative standard deviations were 2.3%-11.8%. The quantification limits of diflubenzuron, chlorbenzuron, imidacloprid, carbendazim, and maleic hydrazide were 1.20, 0.47, 19.99, 2.97, and 161.29 $\mu\text{g}/\text{kg}$, respectively. This method met the requirements for pesticide residue detection, and the QuEChERS pre-treatment technique was simple and convenient. It could provide certain references for the rapid detection of pesticide residues in complex tea matrices.

Key words: LC-MS/MS; QuEChERS; pesticide residue; tea; detection

茶作为广泛饮用的天然饮品, 不仅承载着中国深厚的文化底蕴, 还具有丰富的营养价值和健康功效。然而, 茶叶中的农药残留检测相比于其他传统

作物更具挑战性, 这主要是因为茶叶基质的复杂性导致的杂质干扰^[1]。目前, 茶叶中农药残留主要包括有机磷类、有机氯类、氨基甲酸酯类、拟除虫菊酯类

收稿日期: 2025-07-22

作者简介: 蔡鲁宁(1995—) 男, 银川人, 硕士, 主要从事食品农药残留检测工作。E-mail: 515185279@qq.com

通信作者: 许蕤竹(1985—) 男, 高级工程师, 主要从事食品检测工作。E-mail: xuruizhu@cti-cert.com

农药等,产品涉及杀虫剂、杀菌剂、植物生长调节剂、除草剂^[2]。不同种类农药的结构特点、理化性质均有所不同,其检测方法也存在差异。常见的农药残留检测方法有:高效液相色谱法、气相色谱-质谱联用法、液相色谱-质谱联用法,以及基于酶抑制法、拉曼光谱的快速检测技术^[3]。高效液相色谱法具有设备普及、成本低、适用性强的优点。而液相色谱-质谱联用法具有灵敏度高、选择性强、定量定性结合的优点。这2种方法被广泛应用于实际茶叶中农药残留检测。

国家标准《食品安全国家标准 食品中农药最大残留限量》(GB 2763—2021)于2021年9月3日正式实施^[4]。其中,灭幼脲、吡虫啉、多菌灵、抑芽丹等农药无对应茶叶基质的农药残留检测方法推荐;茶叶中除虫脲残留推荐参照《植物性食品中除虫脲残留量的测定》(GB/T 5009.147—2003)和《水果、蔬菜中杀铃脲等7种苯甲酰胺类农药残留量的测定 高效液相色谱法》(NY/T 1720—2009)规定的方法测定。GB/T 5009.147—2003中除虫脲残留采用石油醚、二氯甲烷活化硅镁吸附剂型预处理小柱,提取液再经预处理小柱处理、浓缩,操作较为繁琐^[5];NY/T 1720—2009中方法的前处理称样量较大,试剂消耗大^[6]。总体而言,这2项标准的前处理流程复杂、操作耗时、取样量大,存在很大的改进空间。QuEChERS法是目前农药残留检测中常见的前处理方法,具有快速、简单、低成本、有效、稳定、安全的特点。但目前针对茶叶基质的QuEChERS法并无固定标准^[7]。为实现茶叶中农药残留的快速、便捷检测,本研究采用QuEChERS法对茶叶基质进行前处理,并分别结合超高效液相法和液相色谱-质谱联用法,建立茶叶中除虫脲、吡虫啉、灭幼脲、抑芽丹、多菌灵5种农药残留的检测方法,具有一定的实际参考价值。

1 材料与方法

1.1 仪器与材料

LCMS-8050液相色谱-三重四级杆质谱联用仪,日本岛津公司;Waters-H-Class超高效液相色谱仪,BEH C₁₈色谱柱(2.1 mm×100 mm,1.7 μm),美国沃特世公司;OSB-2100水浴旋转蒸发仪,日本东京理化器械株式会社;WH-861旋涡振荡器,上海华利达实验设备公司;TDL-40C离心机,上海安亭科学仪器厂。

标准品:除虫脲(250 mg,质量分数99.6%)、灭幼脲(100 mg,质量分数99.1%)、抑芽丹(500 mg,质

量分数99.9%),曼哈格生物科技有限公司;吡虫啉(100 mg,质量分数99.9%)、多菌灵(100 mg,质量分数99.9%),南京希派科技有限公司。

乙腈、甲醇、甲苯,美国霍尼韦尔公司;甲酸,赛默飞世尔科技有限公司;乙酸铵,上海安谱实验科技有限公司;CARB/NH₂净化柱,北京迪马科技有限公司;0.22 μm尼龙针头式过滤器,山东美正生物科技有限公司;陶瓷均质子,上海昕沪实验设备有限公司。

试样:干叶红茶。

1.2 试验方法

1.2.1 样品处理方法

称取2 g(精确至0.01 g)试样于50 mL塑料离心管中,加入5 mL超纯水、10 mL乙腈,振荡1 min。然后加入4 g硫酸镁、4 g氯化钠及1颗陶瓷均质子,剧烈振荡1 min,于4 000 r/min离心3 min。CARB/NH₂净化柱活化,加入4 g无水硫酸钠和3 mL乙腈+甲苯(体积比3:1)溶液进行活化,弃去淋洗液。吸取2 mL上清液至CARB/NH₂净化柱内,用6 mL乙腈洗脱,以上述乙腈+甲苯溶液润洗后鸡心瓶收集淋洗液,旋转蒸发仪旋蒸至近干。用1 mL甲醇复溶,过0.22 μm微孔滤膜,用于测定。

1.2.2 标准溶液的配制

称取目标化合物标准品各10 mg左右,用甲醇溶解后定容到10 mL,配制成质量浓度为1 000 μg/mL的标准储备液。

准确吸取各目标化合物标准储备液100 μL,采用甲醇溶解,准确定容到10 mL,配制成质量浓度为10 μg/mL的标准中间液。

按1.2.1中样品处理方法获得茶叶空白基质溶液,于4℃保存。用茶叶空白基质溶液稀释配制不同浓度的混合标准工作溶液,用甲醇配制不同浓度的溶剂工作溶液。

1.2.3 超高效液相色谱参数

柱温为35℃,流动相A为甲醇,流动相B为水,采用梯度洗脱,流速为0.15 mL/min,进样体积为3.0 μL。

除虫脲梯度洗脱程序:0~1 min,50%~30% B;1~3 min,30%~20% B;3~3.1 min,20%~50% B;3.1~6 min,50% B。

抑芽丹梯度洗脱程序:0~1 min,70% B;1~4 min,70%~40% B;4~4.1 min,40%~70% B;4.1~5 min,70% B。

灭幼脲、吡虫啉、多菌灵梯度洗脱程序:0~5 min,90%~5% B;5~10 min,5% B;10~10.1 min,

5%~90% B ;10.1~15 min ,90% B。

1.2.4 液相色谱-质谱联用参数

液相色谱参数:柱温为35℃,流动相A为0.1%甲酸水溶液(5 mmol乙酸铵),流动相B为甲醇,采用梯度洗脱,流速为0.3 mL/min,进样体积2.0 μL。正离子模式下,吡虫啉、多菌灵、抑芽丹梯度洗脱程序如下:0~1 min,10% B;1~1.1 min,10%~95% B;1.1~4.5 min,95% B;4.5~4.6 min,95%~10% B;4.6~5.5 min,10% B。负离子模式下,除虫脲、灭幼脲梯度洗脱程序如下:0~1 min,10% B;1~1.1 min,10%~95% B;1.1~5.5 min,95% B;5.5~5.6 min,95%~10% B;5.6~6 min,10% B。

质谱:电喷雾离子化离子源(ESI);多反应监测模式(MRM),接口温度为300℃;DL温度为250℃;加热块温度为400℃;雾化气流量为3 L/min;干燥气流量为10 L/min;加热气流量为10 L/min。

2 结果与讨论

2.1 超高效液相色谱检测结果

试验采用PDA检测器的3D扫描探索茶叶中5种农药残留的超高效液相色谱检测方法。以甲醇和水作为流动相,在200~400 nm波长范围内对除虫脲等5种农药进行全波段扫描,分别得到除虫脲、灭幼脲、抑芽丹、吡虫啉、多菌灵的最佳波长265、254、330、270、270 nm。在此条件下,对配制的各有效成分溶剂标准工作溶液进行测定,得出优化后的超高效液相色谱工作参数下的溶剂液相色谱图。

在最佳仪器工作条件下测定基质混合标准工作溶液,以5种农药的质量浓度为横坐标,响应峰面积为纵坐标,绘制标准曲线。结果发现,超高效液相色谱法的基质标准工作曲线无法积分,由溶剂标准工作曲线获得的色谱峰受到杂质峰的明显干扰,推测前处理得到的样液中基质成分和目标农药同时流出,对目标色谱峰产生掩盖。说明建立的QuEChERS结合超高效液相色谱法存在局限性,不能满足农药残留检测要求,需要进一步优化。

2.2 液相色谱-质谱联用仪条件优化

电喷雾电离ESI作为一种“软电离”模式,通常易形成准分子离子峰。除虫脲的检测采用正离子模式 $[M+H]^+$ 和负离子模式 $[M-H]^-$ 均可,但是茶叶中的多酚类物质可能会与除虫脲在正离子模式下发生竞争抑制。因此,茶叶中除虫脲残留检测选择负离子模式,这与GB 23200.45—2016^[8]以及陈磊^[9]的研究结果一致。灭幼脲含有强电负性的氯原子,

易捕获电子形成 $[M-H]^-$,故选用负离子模式检测。吡虫啉、多菌灵、抑芽丹选择正离子模式检测。根据5种农药的相对分子质量(除虫脲310.68、灭幼脲309.15、吡虫啉255.66、多菌灵191.19、抑芽丹112.09)和选择的检测模式确定5种农药的大致母离子范围(除虫脲309、灭幼脲308、吡虫啉256、多菌灵192、抑芽丹113)。对5种农药进行Q3的母离子全扫描获取最佳母离子后,对母离子进行产物离子扫描,并用岛津LAB solution软件自带方法进行碰撞能的优化,依次获取最佳母离子、子离子、碰撞能,并自动生成最优方法。优化后的仪器工作参数下的总离子流图见图1。优化后的质谱参数见表1。

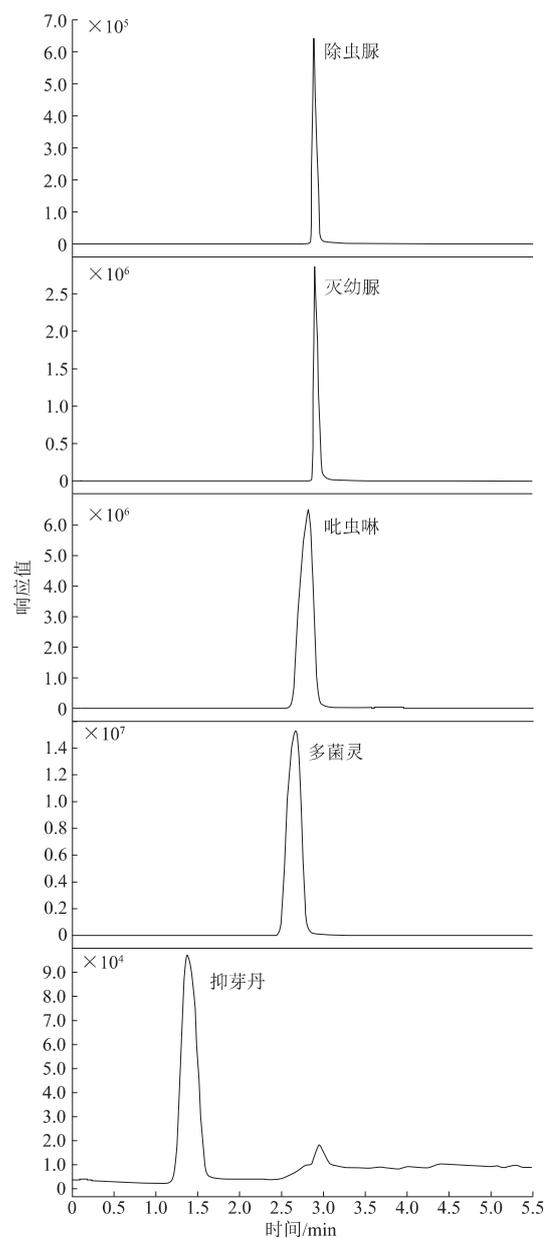


图1 5种农药总离子流图

表1 5种农药的多反应监测扫描模式质谱参数

农药	保留时间/ min	母离子质荷比 (<i>m/z</i>)	特征离子对 (<i>m/z</i>)	碰撞能量/ eV
除虫脲	2.91	309.25	289.15 [*] /156.15	8/10
灭幼脲	2.95	307.2	154.15 [*] /126.1	29/25
吡虫啉	2.81	256.25	175.25 [*] /209.2	-18/-22
多菌灵	2.95	192.2	160.15 [*] /132.2	-30/-24
抑芽丹	1.77	113.25	67.2 [*] /85.2	-14/-30

注：^{*}离子用于定量。

2.3 液相色谱-质谱联用方法验证

2.3.1 标准曲线、定量限及基质效应

配制质量浓度分别为1、2、5、10、20、50、100、200、500 μg/L的基质标准工作溶液,在上述液相色谱-质谱联用条件下进行检测。结果显示,5种农药的响应强度与质量浓度之间存在良好的线性关系,相关系数均大于0.995(见表2)。线性方程和相关系数满足实验室质量控制要求。

表2 5种农药的线性方程和相关系数

农药	基质	线性方程	相关系数
除虫脲	茶叶	$y=1\ 689.05x+8\ 679.71$	0.999 742
灭幼脲	茶叶	$y=9\ 619.09x+9\ 483.10$	0.999 889
吡虫啉	茶叶	$y=19\ 998.50x+2\ 470.34$	0.999 084
多菌灵	茶叶	$y=61\ 094.00x-315\ 346.00$	0.999 287
抑芽丹	茶叶	$y=509.62x-3\ 920.82$	0.998 139

以基质标准曲线的斜率和溶剂标准曲线斜率的比值来衡量基质效应(ME)。 $|ME|$ 小于0.8,为基质抑制效应; $|ME|$ 大于1.2,则为基质增强效应; $|ME|$ 介于0.8到1.2之间,则基质效应不明显^[10]。除虫脲、灭幼脲、吡虫啉、多菌灵、抑芽丹的 $|ME|$ 分别为0.86、0.97、0.42、0.27、0.94。其中,除虫脲、灭幼脲、抑芽丹的基质效应不明显,而吡虫啉和多菌灵存在明显的基质抑制效应。

根据《食品安全国家标准 化学分析方法验证通则》(GB 5009.295—2023)^[11]的要求,向空白茶叶基质中添加目标分析物,进行6次平行测定,以信噪比为10时的质量分数为估算定量限,结果见表3。除虫脲、灭幼脲、吡虫啉、多菌灵、抑芽丹的定量限分别为1.20、0.47、19.99、2.97、161.29 μg/kg。

2.3.2 精密度试验结果

使用建立的QuEChERS结合液相色谱-质谱联用法对空白茶叶样品进行加标回收试验,添加水平分别设定为1倍定量限、2倍定量限和10倍定量限,

每个添加水平平行测定6次,计算加标回收率和相对标准偏差(RSD),结果见表4。

结果显示,除虫脲、灭幼脲、吡虫啉、多菌灵、抑芽丹的加标回收率为86.1%~113.2%,相对标准偏差为1.4%~11.8%。加标回收率在60%~120%范围内,相对标准偏差小于20%,满足残留检测要求。

表3 5种农药的定量限

农药	添加水平/ (μg/kg)	平均信噪比 (S/N)	定量限/ (μg/kg)
除虫脲	2.5	20.8	1.20
灭幼脲	5.0	105.9	0.47
吡虫啉	25.0	12.5	19.99
多菌灵	12.5	42.1	2.97
抑芽丹	125.0	7.8	161.29

表4 5种农药的加标回收率和相对标准偏差($n=6$)

农药	1倍定量限		2倍定量限		10倍定量限	
	平均回收率/%	RSD/%	平均回收率/%	RSD/%	平均回收率/%	RSD/%
除虫脲	97.0	11.8	95.3	2.9	108.7	4.9
灭幼脲	104.4	3.0	102.1	2.4	110.5	4.2
吡虫啉	113.2	3.8	109.9	6.2	105.0	2.3
多菌灵	111.9	2.3	115.4	1.4	86.1	4.1
抑芽丹	100.6	5.8	99.6	6.3	102.0	2.5

3 讨论与结论

本研究将QuEChERS前处理技术分别与超高效液相色谱法、液相色谱-质谱联用法相结合,建立测定茶叶基质中5种农药残留的检测方法。研究发现,超高效液相色谱法虽然能确定5种农药的目标色谱峰,但是在茶叶基质中出现了严重的杂质峰对目标峰的掩盖。在后续的研究中可以对目前确定的QuEChERS前处理方法进行改进,以实现采用超高效液相色谱法对茶叶基质中的农药残留进行检测。本研究建立的QuEChERS结合液相色谱-质谱联用法所得的线性范围、定量限、回收率、相对标准偏差均满足残留检测要求。相比于国家标准的前处理流程复杂、耗时的缺点,本方法采用的QuEChERS前处理技术流程更为高效,流动相简单易配,为实现茶叶等复杂基质中的农药残留快速检测提供一定参考价值。

(下转第88页)

- 病率及根际细菌群落组成的影响[J]. 微生物学通报, 2023, 50(6): 2508-2518.
- [2] KHAN R A, ALAM S S, HAYAT S, et al. Eco-friendly management of bacterial wilt in tomato using dried powder of the wild arid-land medicinal shrub, *Rhazya stricta* [J]. Plant Disease, 2020, 104: 2613-2621.
- [3] 吴思炫, 高复云, 张锐澎, 等. 番茄青枯病生物防治的研究进展[J]. 应用生态学报, 2023, 34(9): 2585-2592.
- [4] RIVERA-ZULUAGA K, HILES R, BARUA P, et al. Getting to the root of *Ralstonia invasion* [J]. Semin Cell Dev Biol, 2023, 148/149: 3-12.
- [5] 王梅, 尹显慧, 龙友华, 等. 几种杀菌剂对番茄青枯病菌的毒力测定及田间药效[J]. 江苏农业科学, 2015, 43(4): 151-153.
- [6] 陈远松, 朱晓伟, 龚翔宇, 等. 分子标记在我国番茄抗病育种的应用研究进展[J]. 浙江农业学报, 2017, 29(8): 1415-1420.
- [7] 徐欣韵, 王宁, 丁佳, 等. 番茄青枯病拮抗菌的定向筛选及其抗病促生机制研究[J]. 微生物学报, 2021, 61(10): 3276-3290.
- [8] 黄伟, 宋博, 张丽娟, 等. 一株番茄青枯病拮抗菌JK19的鉴定及其抑菌活性检测[J]. 新疆农业科学, 2021, 58(7): 1355-1364.
- [9] PENG D, LUO K, JIANG H D, et al. Combined use of *Bacillus subtilis* strain B-001 and bactericide for the control of tomato bacterial wilt [J]. Pest Management Science, 2017, 73(6): 1253-1257.
- [10] 刘继红, 甘良, 蓝星杰, 等. 生防菌与化肥和杀菌剂混用对棉花枯萎病的防病促生作用[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2016, 44(7): 165-172.
- [11] 瞿佳, 门欣, 陈锐, 等. 核桃黑斑病拮抗放线菌WMF106的筛选、鉴定及防效[J]. 微生物学通报, 2021, 48(10): 3621-3631.
- [12] 布坎南 R E, 吉本斯 N E. 伯杰氏系统细菌学手册[M]. 8 版. 北京: 科学出版社, 1984: 729-758.
- [13] 东秀珠, 蔡妙英. 常见细菌系统鉴定手册[M]. 北京: 科学出版社, 2001: 62-65.
- [14] LEE S M, KONG H G, SONG G C, et al. Disruption of firmicutes and actinobacteria abundance in tomato rhizosphere causes the incidence of bacterial wilt disease [J]. ISME J, 2021, 15(1): 330-347.
- [15] 刘畅, 姚晨斌, 李小杰, 等. 复合生防菌剂对田间烟草根茎类病害的防治效果[J]. 烟草科技, 2021, 54(11): 18-24.
- [16] 佃德佳, 范鸿雁. 46%氢氧化铜水分散粒剂对辣椒青枯病的田间防治效果[J]. 蔬菜, 2015(11): 8-10.
- [17] 熊汉琴. 番茄青枯病拮抗菌的筛选及其生防机制研究[D]. 广州: 华南农业大学, 2016.
- [18] 黄慧娟. 番茄青枯病生防细菌的筛选鉴定及其与杀菌剂协同增效特性研究[D]. 长沙: 湖南农业大学, 2022.
- [19] 徐欣韵, 王宁, 丁佳, 等. 番茄青枯病拮抗菌的定向筛选及其抗病促生机制研究[J]. 微生物学报, 2021, 61(10): 3276-3290.

(上接第 66 页)

参考文献

- [1] 李岩. 茶叶中农药多残留测定时基质效应研究[D]. 河北秦皇岛: 燕山大学, 2014.
- [2] 胡付照, 陈正行, 李鹤, 等. 茶叶中农药残留标准及检测方法研究进展[J]. 食品与生物技术学报, 2018, 37(10): 1009-1014.
- [3] 顾佳丽, 赵刚. 农药残留分析技术[M]. 北京: 中国石化出版社, 2014.
- [4] 中华人民共和国国家卫生健康委员会, 中华人民共和国农业农村部, 国家市场监督管理总局. 食品安全国家标准 食品中农药最大残留限量: GB 2763—2021[S]. 北京: 中国标准出版社, 2021.
- [5] 中华人民共和国卫生部, 中国国家标准化管理委员会. 植物性食品中除虫脲残留量的测定: GB/T 5009.147—2003[S]. 北京: 中国标准出版社, 2003.
- [6] 中华人民共和国农业部. 水果、蔬菜中杀铃脲等7种苯甲酰胺类农药残留量的测定 高效液相色谱法: NY/T 1720—2009[S]. 北京: 中国农业出版社, 2009.
- [7] LIU X Q, LI Y F, MENG W T, et al. A multi-residue method for simultaneous determination of 74 pesticides in Chinese material medica using modified QuEChERS sample preparation procedure and gas chromatography tandem mass spectrometry [J]. Journal of Chromatography B, 2016, 1015-1016: 1-12.
- [8] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会, 中华人民共和国农业部, 国家食品药品监督管理总局. 食品安全国家标准 食品中除虫脲残留量的测定 液相色谱-质谱法: GB 23200.45—2016 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2016.
- [9] 陈磊. 乌龙茶中7种苯甲酰胺类农药残留的浸出特性[J]. 福建茶叶, 2014, 36(1): 9-13.
- [10] 王文昌, 吴娟娟, 栗星, 等. QuEChERS-超高效液相色谱-串联质谱法测定大米和小麦中7种吡啶类农药的残留量[J]. 理化检验-化学分册, 2025, 61(5): 561-567.
- [11] 国家卫生健康委员会, 国家市场监督管理总局. 食品安全国家标准 化学分析方法验证通则: GB 5009.595—2023[S]. 北京: 中国标准出版社, 2023.