测定牛奶和奶粉中甲基毒死蜱残留量的气相色谱串联质谱法研究

赵凤茹[1, 2, 3]，谢凯丽[1]，水　明[1, 2, 3]，丛慧敏[1, 2, 3]，薛文强[1]，李琪琪[1]，代晶晶[1]，龙　洋[1]，王婼依[1, 2, 3]

1 北京奶牛中心，北京 100192
2 农业农村部奶牛遗传育种与繁殖重点实验室，北京 100192
3 奶牛遗传育种与繁殖北京市重点实验室，北京 100192

摘　要：[目的]通过选取适宜的分析色谱柱，简化样品的前处理过程，选取合适的离子对进行监测，提高方法的灵敏度和准确度。[方法]测定样品平行性（精密度）、加标回收率（准确度）、方法检出限，对该检测方法进行验证。[结果]牛奶中添加甲基毒死蜱的回收率分别为105.3%、106.9%、108.2%，甲基毒死蜱在3 个添加水平上的变异系数分别为1.61%、3.06%、2.52%。奶粉中添加甲基毒死蜱的回收率分别为100.3%、89.8%、88.5%，甲基毒死蜱在3 个添加水平上的变异系数分别为2.14%、1.97%、1.82%。[结论]该方法精密度和准确度符合要求，可用于牛奶和奶粉中日常甲基毒死蜱残留的测定和质量控制。

关键词：甲基毒死蜱；气相色谱–质谱/质谱联用仪；牛奶；奶粉

文章编号：1671–4393（2025）04–0097–07　　DOI:10.12377/1671–4393.25.04.17

0 引言

当前，有机磷农药大多属于高毒性类型，一旦在农产品中残留，可经呼吸道、皮肤、黏膜或消化道等途径进入人体，可能引发食物中毒[1]。

甲基毒死蜱作为一种化学杀虫剂，分子式为$C_7H_7C_{l3}NO_3PS$，是一种广谱硫逐磷酸酯类有机磷杀

基金项目：青年北京学者（NO.059）；家畜产业技术体系北京市创新团队（BAIC05–2023）

作者简介：赵凤茹（1971–），女，北京人，硕士，高级畜牧师，研究方向为奶牛养殖与奶牛育种；
谢凯丽（1993–），女，北京人，本科，助理工程师，研究方向为乳品安全检测；
水　明（1982–），男，北京人，硕士，高级工程师，研究方向为乳品安全检测；
丛慧敏（1976–），女，山东巨野人，硕士，高级畜牧师，研究方向为奶牛养殖；
薛文强（1997–），男，河北定州人，本科，助理工程师，研究方向为乳及乳制品检测。
李琪琪（1995–），女，河北张家口人，大专，助理工程师，研究方向为乳品安全检测；
代晶晶（1996–），女，内蒙古巴彦淖尔人，本科，助理工程师，研究方向为乳品安全检测；
龙　洋（1999–），女，北京人，硕士，助理工程师，研究方向为乳品安全检测；
王婼依（1994–），女，内蒙古通辽人，本科，研究方向为奶牛育种。

中国乳业线上阅读

虫剂，有望取代剧毒有机磷农药[2]。其具有触杀、胃毒或熏蒸功效，无内吸作用，在土壤中无持久效力，可用于防治贮藏谷物中的害虫，以及各种叶类作物上的害虫，还有蚊虫、蝇类、水生幼虫和卫生害虫等， 因其具有药效高、残留期短等优势被广泛应用[2, 3]。在原粮贮藏时，能有效防控玉米象、杂拟谷盗、锯谷盗、赤拟谷盗等虫害。近年来，随着农业科技的进步和生产的发展，农产品中农药残留超标的问题日益凸显，其中，有机磷农药是一类较常见的农药类型。长期摄入含有机磷农药的食物可能导致一系列神经中毒症状，如出汗、震颤、语言失常等，情况严重的者甚至呼吸麻痹，最终导致死亡[3]。此外，不当或过量使用有机磷农药会导致农药残留及其有毒代谢物产生，这些有害物质借助食物链在动植物体内富集，通过食用含残留的动植物产品等方式，对人体健康构成潜在风险[4]。

在农业种植生产活动中，农药在防治农作物病虫害中发挥重要作用。但大多数有机磷农药用后会有一定残留。需明确的是，科学且依规使用农药不会影响人体和牲畜的健康。鉴于此，相关国际组织通过标准和法律手段，允许农产品中存在一定量的农药残留，同时采用制定最高残留限量标准的方式，防控其可能带来的潜在风险[5]。在我国，以生乳为例，《GB 2763—2021 食品安全国家标准　食品中农药最大残留限量》规定，甲基毒死蜱的最大残留限量为0.01 mg/kg[6]。

玉米青贮、苜蓿等是奶牛的主要饲料原料，若长期摄入含有农药残留的饲料可能使奶牛中毒、免疫力下降等，影响牛奶质量与安全。饲料原料中甲基毒死蜱残留可能导致生乳中甲基毒死蜱的检出。因此，强化有机磷类农药残留监管非常关键[7]。

在农药残留测定领域，以往研究中涉及的检测方法包含光谱法、气相色谱法、液相色谱法、气相色谱-质谱法（Gas Chromatography-mass Spectrometry，GC-MS）和电化学法等[8]。其中，气相色谱法和液相色谱法存在局限，灵敏度相对不高，分离度有限，检测农药种类有限，在目标待测物定性确证环节容易受到干扰。与之不同的是，色谱与三重四极杆质谱串联技术优势显著，能兼顾高效的色谱分辨率，高通量、高灵敏度，将质谱检测性能巧妙结合，在复杂基质背景下实现目标待测物的定性与定量分析，目前已成为多种农药残留分析最关键检测技术[9]。GC-MS在动植物源性食品的农药残留检测方面具备诸多优点，可检测多种农药残留含量且定性精准、检测限低，与气相色谱法相比，检测结果更精确[4]。本研究采用气相色谱串联质谱的检测方法对牛奶和奶粉中甲基毒死蜱的残留量进行研究。

1 材料与方法[10]

1.1 仪器和试剂

1.1.1 仪器

Agilent 8890-7000D三重串联四级杆气相色谱-质谱/质谱联用仪，配有电子轰击源（EI），美国安捷伦科技有限公司；H160电子天平（感量1 mg）、BSA224S-CW分析天平（感量0.1 mg），赛多利斯科学仪器（北京）有限公司；DHM-200多管涡旋混合仪，宁波洛尚智能科技有限公司；GT10-1高速台式离心机，北京时代北利离心机有限公司；RE-52AA旋转蒸发器，上海亚荣生化仪器厂；GM-0.5A隔膜真空泵，天津津腾试验设备有限公司；VORTEX-7迷你混合仪（海门市其林贝尔仪器制造有限公司），ENVI-18固相萃取柱，德国默克公司；具塞离心管（50 mL）；鸡心瓶（100 mL）；移液器（1 mL和10 mL）；样品瓶（2 mL，带聚四氟乙烯旋盖）。

1.1.2 试剂

甲基毒死蜱标准溶液[GBW（E）0866476，100 μg/mL]，北京北方伟业计量技术研究院；乙腈（色谱纯）、正己烷（色谱纯），赛默飞世尔科技有限公司；硫酸镁（分析纯），山东西亚化学有限公司；氯化钠（分析纯），北京市通广精细

中国乳业线上阅读

化工公司。

1.2 试验方法

1.2.1 甲基毒死蜱标准溶液的配制

吸取甲基毒死蜱标准溶液1 mL于10 mL容量瓶中，用正己烷定容至刻度，得标准中间液浓度，含10 μg/mL甲基毒死蜱。

1.2.2 色谱条件

气相色谱和质谱条件见表1。

表 1 色谱条件

仪器	Agilent 8890–7000D 三重串联四级杆气相色谱 – 质谱 / 质谱联用仪
色谱柱	HP–5MS UItra Inert 30 m × 250 μ m × 0.25 μ m
色谱柱温度	初始温度 60 ℃，以 40 ℃ /min 程序升温至 170 ℃，再以 10 ℃ /min 的速度升温至 310 ℃，保持 3 min
载气	氦气，纯度≥ 99.999%，流速 1.112 mL/min
进样口温度	280 ℃
进样量	1 μ L
进样方式	不分流进样
电离能量	70 eV
离子源温度	280 ℃
GC–MS 接口温度	280 ℃
定量离子（对）（m/z）	124.9 → 47.0
定性离子（对）（m/z）	285.9 → 93.0，78.9 → 47.0

1.2.3 试验内容

（1）样品前处理

① 提取。准确称量3.0 g奶粉试样于50 mL具塞离心管中，加入20 mL乙腈，振摇使其混合均匀。随后加入4 g硫酸镁，将离心管置于多管涡旋混合仪上，2 800 rpm混匀并提取3 min，4 200 r/min离心5 min。用移液枪将上清液完全转移至100 mL鸡心瓶中，向离心管中再次加入20 mL乙腈，沉淀物重复提取1 次，4 200 r/min离心5 min，合并两次上清液作为提取液，将鸡心瓶置于40 ℃水浴环境中，旋转蒸发提取液至其体积浓缩至1 mL左右，待净化。

准确量取15 mL牛奶试样于50 mL具塞离心管中，加入20 mL乙腈，振摇使其混合均匀。随后加入1 g氯化钠和4 g硫酸镁，将离心管置于多管涡旋混合仪上，2 800 rpm混匀并提取3 min，4 200 r/min离心5 min。用移液枪将上清液完全转移至100 mL鸡心瓶中，向离心管中再次加入20 mL乙腈，沉淀物重复提取1 次，4 200 r/min离心5 min，合并两次上清液作为提取液，将鸡心瓶置于40 ℃水浴环境中，旋转蒸发提取液至其体积浓缩至1 mL左右，待净化。

② 净化。在固定架上装固相萃取柱，加入10 mL乙腈预洗，用移液枪将鸡心瓶底部的浓缩提取液完全转移至固相萃取柱中。分次向鸡心瓶中加入5 mL乙腈振摇，再将洗涤液转移至原固相萃取柱中，重复上述操作两次，将流出液收集于100 mL洁净鸡心瓶中，加入10 mL乙腈，缓慢洗脱ENVI–18固相萃取柱，控制流速，合并两次流出液作为净化液。40 ℃水浴蒸发净化液至0.5 mL左右，每次加入5 mL正己烷溶剂，40 ℃旋转蒸发，重复以上操作两次至最终浓缩净化液体积为1 mL左右，供三重串联四级杆气相色谱–质谱/质谱联用仪测定。

（2）精密度试验

取一定量的牛奶、奶粉试样，分别平行进样6 次。根据测得甲基毒死蜱含量计算相对标准偏差（RSD）。

（3）准确度试验

选取一定量的牛奶、奶粉试样，分别加入0.004 mg/kg、0.008 mg/kg、0.010 mg/kg甲基毒死蜱，同时测定样品本底值，根据测得结果计算回收率。

1.3 数据处理与分析

试验原始数据的结果计算与统计分析使用安捷伦科技有限公司MassHunter10.1.733.0工作站软件和G9250AA MRMDatabaseA.04.02数据库。

2 结果与分析

2.1 基质效应评价

按照样品前处理方法处理市售牛奶和奶粉，使用三重串联四级杆气相色谱–质谱/质谱联用仪检

中国乳业线上阅读

测，筛选出不含甲基毒死蜱的空白基质溶液。分别用正己烷溶剂和获取的空白基质溶液配制甲基毒死蜱浓度相同的两种待测上机液，在色谱条件相同的情况下进行测定。按照空白基质标液中分析物峰面积与纯溶剂标液中分析物峰面积比值计算牛奶和奶粉的基质效应[11]。

根据试验结果，目标物甲基毒死蜱测定表现为基质增强效应。为降低样品基质效应对分析结果产生影响，提高测定结果准确性，筛选空白样品与待测样品同时处理，采用空白基质溶液校正测定结果。

2.2 色谱柱的选择

《GB/T 23210—2008 牛奶和奶粉中511 种农药及相关化学品残留量的测定》[10]推荐使用分离色谱柱为DB-1701（14%氰丙基-苯基）-甲基聚硅氧烷，本试验使用的色谱柱为HP-5MS（5%-苯基）-甲基聚硅氧烷，该色谱柱对甲基毒死蜱的分离测定起到与国家标准相当的效果。

气相色谱分析中，随着色谱柱的使用，固定相流失；色谱柱拆卸安装后截取污染部分，造成色谱柱长度不同；不同检验人员使用不同批次溶剂及标准物质，以上操作均易导致保留时间漂移问题。

本试验采用保留时间锁定技术降低待测目标物定性偏差。保留时间锁定技术是一种在不同系统之间消除因仪器改变而带来保留时间变化的功能，即当不同GC-MS/MS系统使用相同型号色谱柱以及相同的柱升温程序时，任何GC-MS/MS系统均可获得相似的色谱保留能力，重现化合物保留时间。

结合G9250AA数据库，HP-5MS色谱柱可与保留时间锁定技术匹配，并使用甲基毒死蜱作为锁定的标准物质，通过系统调整进样口压力，稳定保留时间[12]，有效提高定性结果的可信度。

2.3 直线回归方程

取未被甲基毒死蜱或相近化学物质污染的牛奶或奶粉试样，按上述提取和净化步骤制备阴性基质，用于配制基质混合标准工作溶液。

配制甲基毒死蜱标准溶液浓度分别为 0.062 5 μg/mL、0.125 0 μg/mL、0.250 0 μg/mL、0.500 0 μg/mL、1.000 0 μg/mL的基质混合标准工作溶液，浓度从低到高依次上机测定，以定量离子的峰面积对质量浓度作图，得到牛奶试样基质中甲基毒死蜱标准曲线回归方程（图1）。

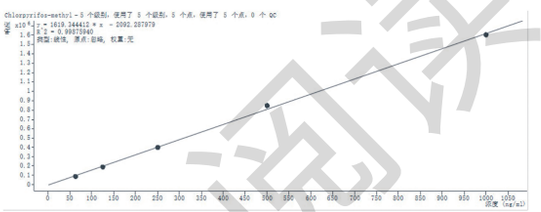


图 1 牛奶中甲基毒死蜱标准曲线浓度及响应图

以信噪比（S/N=3）表示方法，甲基毒死蜱在牛奶中的检出限为0.004 2 mg/L。结果表明，在0.062 50～1.000 μg/mL范围内，浓度与其峰面积呈良好线性关系，且灵敏度可满足方法学要求。回归方程为y=1619.3x-2092.3，相关系数（R^2）为0.998 8。

配制甲基毒死蜱标准溶液浓度分别为 0.062 5 μg/mL、0.125 0 μg/mL、0.250 0 μg/mL、0.500 0 μg/mL、1.0000 μg/mL的基质混合标准工作溶液，浓度从低到高依次上机测定，以定量离子峰面积对质量浓度作图，得到奶粉样品基质中甲基毒死蜱标准曲线回归方程（图2）。

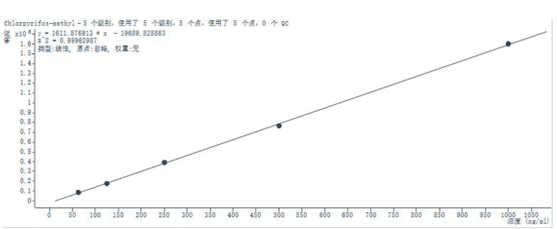


图 2 奶粉中甲基毒死蜱标准曲线浓度及响应图

以信噪比（S/N=3）表示方法，甲基毒死蜱在奶粉中的检出限为0.020 8 mg/kg。结果表明，在0.062 50～1.000 μg/mL范围内，浓度与其峰面积呈良好线性关系，且灵敏度可满足方法学要求。回归方程为y=1 611.9x-19 689.8，相关系数（R^2）为

中国乳业线上阅读

0.999 6

2.4 精密度和准确度试验

在已知空白牛奶试样（图3）中进行0.004 mg/kg、0.008 mg/kg、0.010 mg/kg 3 个浓度水平[3]的添加回收试验和精密度试验（图4），每个水平重复6 次（表2）。在已知空白奶粉试样（图5）中进行0.02 mg/kg、0.08 mg/kg、0.10 mg/kg 3 个浓度水平的添加回收试验和精密度试验（图6），每个水平重复6 次（表3）。

表 2 牛奶中添加甲基毒死蜱回收率试验

添加浓度水平（mg/kg）	测定浓度（mg/kg）	回收率（%）	平均回收率（%）	CV（%）
0.004	0.004 224	105.6	105.3	1.61
	0.004 259	106.5		
	0.004 204	105.1		
	0.004 294	107.3		
	0.004 189	104.7		
	0.004 096	102.4		
0.008	0.008 962	112.0	106.9	3.06
	0.008 485	106.1		
	0.008 556	106.9		
	0.008 281	103.5		
	0.008 292	103.7		
	0.008 720	109.0		
0.010	0.010 920	109.2	108.2	2.52
	0.010 910	109.1		
	0.010 660	106.6		
	0.010 390	103.9		
	0.011 200	112.0		
	0.010 830	108.3		

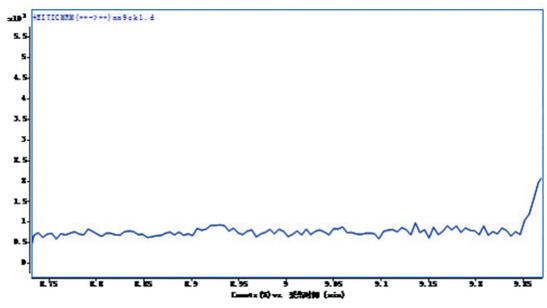


图 3 牛奶中甲基毒死蜱空白试样色谱图

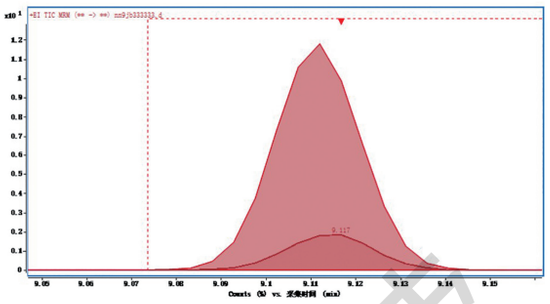


图 4 牛奶中甲基毒死蜱加标试样色谱图

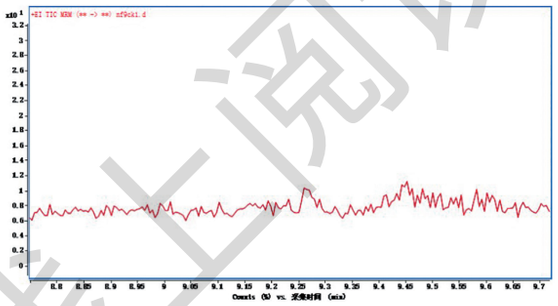


图 5 奶粉中甲基毒死蜱空白试样色谱图

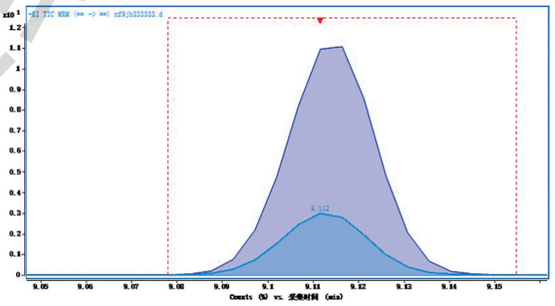


图 6 奶粉中甲基毒死蜱加标试样色谱图

牛奶中添加甲基毒死蜱的回收率分别为105.3%、106.9%、108.2%，甲基毒死蜱在3 个添加水平上的变异系数分别为1.61%、3.06%、2.52%。奶粉中添加甲基毒死蜱的回收率分别为100.3%、89.8%、88.5%，甲基毒死蜱在3 个添加水平上的变异系数分别为2.14%、1.97%、1.82%。

由表2和表3可知，依本研究方法进样测定，待测试样中加标回收率为88.5%～108.2%，具有良好的准确度，满足《GB/T 27404—2008 实验室质量控制规范 食品理化检测》规定的实验分析要求[13, 14]。

中国乳业线上阅读

表 3 奶粉中添加甲基毒死蜱回收率试验

添加浓度水平（mg/kg）	测定浓度（mg/kg）	回收率（%）	平均回收率（%）	CV（%）
0.02	0.019 70	98.5	100.3	2.14
	0.019 63	98.1		
	0.020 55	102.8		
	0.020 50	102.5		
	0.019 70	98.5		
	0.020 26	101.3		
0.08	0.070 84	88.6	89.8	1.97
	0.071 45	89.3		
	0.074 12	92.6		
	0.072 98	91.2		
	0.070 55	88.2		
	0.070 99	88.7		
0.10	0.090 39	90.4	88.5	1.82
	0.089 52	89.5		
	0.086 61	86.6		
	0.086 57	86.6		
	0.088 36	88.4		
	0.089 52	89.5		

3 结论

本研究通过大量试验，用三重串联四级杆气相色谱-质谱/质谱联用仪，在优化质谱条件的前提下，基质混合标准溶液，外标法定量，验证甲基毒死蜱在牛奶和奶粉中的检出限以及适当浓度的添加，建立一种可检测多种农药残留含量、定量准确、灵敏度较高的牛奶和奶粉中甲基毒死蜱残留量的测定方法。结果表明，甲基毒死蜱浓度在0.06250～1.000 μg/mL范围内线性关系良好，牛奶在添加水平0.004 mg/kg、0.008 mg/kg、0.010 mg/kg下的平均加标回收率分别为105.3%、106.9%、108.2%，变异系数分别为1.61%、3.06%、2.52%；奶粉在添加水平0.02 mg/kg、0.08 mg/kg、0.10 mg/kg下的平均加标回收率分别为100.3%、89.8%、88.5%，变异系数分别为2.14%、1.97%、1.82%，精密度和准确度符合要求。该方法可用于牛奶和奶粉中日常甲基毒死蜱残留的测定和质量控制。

参考文献

[1] 薛丽，王尚君，张卫东，等.双柱双检测器气相色谱法测定蔬菜水果中8种有机磷农药残留量[J].农药，2022，61（3）：208-211.
[2] 苏美玲，刘海旭，丁勇宝，等.气相色谱法测定大豆中甲基毒死蜱残留量[J].食品安全质量检测学报，2018，9（21）：5608-5613.
[3] 孙倩芸，井凤，岳书浩，等.甲醇中甲基毒死蜱溶液标准物质的研制[J].轻工标准与质量，2024（3）：55-58.
[4] 黄彩凤，王双娄.气相色谱-质谱法测定鸡肉中多种农药残留[J].食品安全导刊，2024（25）：95-98.
[5] 高丽霞.浅析气相色谱法测定农产品中有机磷残留农药[J].农村经济与科技，2021，32（14）：161-163.
[6] 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.GB 2763—2021 食品安全国家标准 食品中农药最大残留限量[S].
[7] 渠旭红.气相色谱法测定蔬菜中5 种有机磷农药残留的研究[J].食品安全导刊，2024（22）：66-68，76.
[8] 阳曦，陈慧斐，向世杰.QuEChERS-气相色谱-串联质谱法测定结球甘蓝中甲基毒死蜱农药残留不确定度评估[J].食品安全质量检测学报，2021，12（3）：1136-1141.
[9] Wu W，Liu S，Guo T，et al.Rapid screening of 70 colorants in dyeable foods by using ultra-high-performance liquid chromatography-hybrid quadrupole-orbitrap mass spectrometry with customized accurate-mass database and mass spectral library［J］.Food Chemistry，2021，356：129643.
[10] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局，中国国家标准化管理委员会. GB/T 23210—2008 牛奶和奶粉中511 种农药及相关化学品残留量的测定[S].
[11] 罗贵文，黄告，林思思，等.气相色谱法测定水果中15 种有机磷类农药残留的基质效应[J].安徽农业科学，2024，52（23）：188-191，204.
[12] 陈波，靳保辉，肖锋，等.分散液液微萃取-保留时间锁定-气相色谱质谱联用测定地表水中34 种农药[J].中国卫生检验杂质，2013，23（16）：3181-3184，3189.
[13] 纪坤发，杨爱君，何瑛，等.高效液相色谱法测定牛奶中黄曲霉毒素M_1含量的方法验证研究[J].中国乳业，2024（11）：120-132.
[14] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局，中国国家标准化管理委员会.GB/T 27404—2008 实验室质量控制规范食品理化检测[S].

中国乳业编辑部

Study on the Determination of Methyl Chlorpyrifos Residues in Milk and Milk Powder by Gas Chromatography–tandem Mass Spectrometry

ZHAO Fengru[1, 2, 3], XIE Kaili[1], SHUI Ming[1, 2, 3], CONG Huimin[1, 2, 3], XUE Wenqiang[1], LI Qiqi[1], DAI Jingjing[1], LONG Yang[1], WANG Ruoyi[1, 2, 3]

[1]Beijing Dairy Cattle Center, Beijing 100192

[2]Key Laboratory of Dairy Cattle Genetic, Breeding and Reproduction, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Beijing 100192

[3]Beijing Key Laboratory of Dairy Cattle Genetic, Breeding and Reproduction, Beijing 100192

Abstract: [Objective]By selecting the appropriate analytical chromatographic column, the pretreatment process of the sample was simplified, and the suitable ion pairs were selected for monitoring, the sensitivity and accuracy of the method were improved. [Method] The parallelism (precision) of the samples, the recovery rate of spiked samples (accuracy), and the detection limit of the method were determined to verify the detection method. [Result] The recovery rates of methyl chlorpyrifos added to milk were 105.3%, 106.9% and 108.2%, and the coefficients of variation at the three addition levels were 1.61%, 3.06% and 2.52%. The recovery rate of methyl parathion added to milk powder were 100.3%, 89.8% and 88.5%, and the coefficients of variation at the three addition levels were 2.14%, 1.97% and 1.82%.[Conclusion]The precision and accuracy of this method met the requirements and it could be used for the determination and quality control of daily methyl chlorpyrifos residues in milk and milk powder.

Keywords: methyl chlorpyrifos; gas chromatography-mass spectrometry/mass spectrometry combined instrument; milk; milk powder

▲上接96页

GE Xusheng

Inner Mongolia Mengniu Dairy (Group) Co., Ltd., Hohhot Inner Mongolia 010000

Abstract: Micro nano plastics (MNPs) exist widely in the environment, and their potential ecotoxicity and health risks have become a global research focus. MNPs have good lipophilicity, but the contamination risk of MNPs in sterilized milk has not been concerned. This study analyzed the source of MNPs contamination in raw milk end and factory end sterilized milk, and discussed the extraction, detection and removal methods of MNPs, especially the application of membrane separation technology in dairy industry. The estimated daily intake (EDI) of MNPs and Modified Cancer Risk (MPCR) of human exposure to MNPs in drinking sterilized milk were calculated to discuss the risks of MNPs in drinking sterilized milk. On this basis, it is suggested that future research should re-evaluate the toxic effects of MNPs combined pollutants and their transfer efficiency in animals and plants, and establish standardized determination methods to better assess the risk of MNPs enrichment to humans through the food chain and harm human health.

Keywords: micro and nano plastic; exposure pathway; sterilized milk; removal; risk assessment

中国乳业线上阅读