

液相色谱-串联质谱法测定合水粉葛中氟虫腈·甲拌磷和克百威及其代谢物残留量

黄梅花 (佛山市高明区农业技术服务推广中心, 广东佛山 528500)

摘要 [目的]建立合水粉葛中氟虫腈、甲拌磷和克百威及其代谢物残留(9种)的液相色谱-串联质谱分析方法。[方法]采用改良 QuEChERS 方法,使用电子喷雾离子源(ESI)和选择反应监测(SRM)模式测定,基质匹配标准曲线定量。[结果]9种农药在 10~200 $\mu\text{g/L}$ 具有较好的线性关系,相关系数均大于 0.995。加标回收率为 81.7%~119.4%,最低检测限为 0.38~5.88 $\mu\text{g/kg}$,相对标准偏差为 4.5%~12.4%。[结论]该方法适用于合水粉葛中 9 种农药的检测。

关键词 液相色谱-串联质谱法;农药残留;代谢物;合水粉葛

中图分类号 TS207.5⁺3 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2018)18-0157-03

Determination of Fipronil, Phorate and Carbofuran and Its Metabolites Residues in Heshui *Pueraria thomsonii* Benth by High Performance Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry

HUANG Mei-hua (Foshan City Gaoming District Agricultural Technology Service and Popularize Center, Foshan, Guangdong 528500)

Abstract [Objective] The research aimed to develop a simple and rapid method for the determination of fipronil, phorate and carbofuran and its metabolites residues (9 kinds of pesticides) in Heshui *Pueraria thomsonii* Benth by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. [Methods] The sample was prepared by the modified QuEChERS(Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, Safe) method, extracted with electrosprary ion source (ESI), selected reaction monitoring mode (SRM) and matrix-matched external standard method were applied to sample analysis. [Result] The calibration curves of 9 pesticide residues were linear in the range of 10-200 $\mu\text{g/L}$ with correlation coefficients more than 0.995. The recoveries for all compounds were 81.7% - 119.4%, The limits of quantitation (LOQ) were 0.38-5.88 $\mu\text{g/kg}$, and the RSD were 4.5%-12.4%. [Conclusion] This method is suitable for the detection of the 9 kinds of pesticides in Heshui *Pueraria thomsonii* Benth.

Key words High performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry; Pesticide residue; Metabolite; Heshui *Pueraria thomsonii* Benth

合水粉葛, 出产于广东省佛山市高明区的粉葛代表性产品, 因其具有独特优良品质而畅销国内外, 并于 2006 年获得“国家地理标志产品”称号^[1]。合水粉葛的主要成分是淀粉, 此外含有约 12% 的黄酮类化合物, 是老少皆宜的名贵滋补品, 有“千年人参”之美誉, 也是众多粉葛食品加工厂家优质的原料。

到目前为止, 甲拌磷、克百威、氟虫腈 3 种农药都是禁止在蔬菜中使用的农药, 根据《食品安全国家标准 食品中农药最大残留限量》(GB 2763—2016)^[2], 标准中列出了这 3 种农药在蔬菜中的最大残留限量, 且此残留量包括农药母体和代谢物, 以农药母体表示。然而, 标准中指定的标准检测方法, 如检测甲拌磷的标准方法(GB 23200.8—2016)^[3]作为气相色谱-质谱法, 只检测甲拌磷和甲拌磷砒, 不检测甲拌磷亚砒; 氟虫腈的标准检测方法(SN/T 1982—2007)^[4]为气相色谱-质谱法, 可以检测氟虫腈却不能检测其代谢物; 克百威的标准检测方法(NY/T 761—2008)^[5]是液相色谱法, 然而, 为提高检测效率, 使用液相色谱法-串联质谱法, 但是标准方法液相色谱-串联质谱法(GB/T 20769—2008)^[6]只检测克百威, 不涉及 3-羟基克百威。目前, 有关甲拌磷、克百威、氟虫腈 3 种农药残留量检测的方法有气相色谱-串联质谱法^[7]、液相色谱-串联质谱法^[8], 但是这些方法不是只检测农药母体本身, 不检测农药的代谢物, 就是几种农药在不同方法不同仪器中检测, 比较分散, 导致检测效率不高。因此, 笔者采用液相色谱-串联质谱法中正负离子切换的模式, 同时检测粉葛中甲拌磷、克百威、氟虫腈 3 种农药(包括母体和代谢物

共 9 种化合物), 以提高检测效率和检测结果的准确度, 保障合水粉葛作为国家地理标志产品的质量安全, 有益于合水粉葛的广泛传播, 有利于更好地发展合水粉葛的出口事业。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 主要仪器。 Thermo SCIENTIFIC UltiMate 3000-TSQ ENDURA(液相色谱-质谱联用仪); T10 分散机(德国 IKA 公司); 冷冻台式离心机 ALLEgraX-15R(Beckman Coulter); MS1 涡旋混匀仪(德国 IKA 公司); JJ100 电子天平(常熟市双杰测试仪器厂)。

1.1.2 主要试剂。 乙腈、甲酸、甲醇(色谱纯, 德国 Merck 公司); 乙酸铵(色谱纯)、氯化钠(分析纯)、QuEChERS 净化管(内含 50 mg N-丙基乙二胺吸附剂(PSA)、50 mg 十八烷基键合硅胶吸附剂(C18)、150 mg 无水 MgSO_4 , 美国 Agilent 公司); 0.2 μm 滤膜; 实验室用水为超纯水[经超纯水器 Direct-Q3(美国密理博 Millipore 公司)纯化]。9 种农药标准物质均购自农业部环境质量监督检验测试中心(天津), 质量浓度为 1 000 $\mu\text{g/mL}$ 。

1.2 方法

1.2.1 标准溶液的配制。 用乙腈溶液将 1 000 $\mu\text{g/mL}$ 的标准溶液稀释至 100 $\mu\text{g/mL}$ 的单标准储备液, 并置于 -20 $^{\circ}\text{C}$ 的冰箱保存, 使用时用样品空白基质稀释配制不同浓度的基质混合标准工作液, 且此工作液现配现用。

配制标准工作溶液必须将农药母体本身与其代谢物分开, 不配成混合溶液, 以免影响后续的样品定量分析, 进而降低检测结果的准确度。该试验将包括代谢物在内的 9 种化合物分为 4 组, 氟虫腈、甲拌磷、克百威为一组, 氟虫腈砒、甲拌磷砒、3-羟基克百威为一组, 氟虫腈亚砒与甲拌磷亚砒为

作者简介 黄梅花(1990—), 女, 广东河源人, 助理工程师, 从事农产品中药物残留检测研究。

收稿日期 2018-03-22

一组,氟甲腈为一组。

1.2.2 液相色谱条件。色谱柱: ZORBAX SB-C18 柱 (Narrow-Bore 2.1 mm×150 mm, 3.5 μm); 柱温 30 ℃; 流动相 A 为 0.1%甲酸-5 mmol/L 乙酸铵水溶液 (1 mL 甲酸+0.385 g 乙酸铵溶于超纯水中, 定容至 1 L), 流动相 B 为乙腈。梯度洗脱程序: 0~1.0 min, 95% A; 4.0 min, 60% A; 8.0 min, 40% A; 14.0 min, 20% A; 14.1~18.0 min, 95% A, 总时长 18 min。流速为 0.30 mL/min, 进样量为 8 μL。

1.2.3 质谱条件。离子源电子喷雾离子源 (H-ESI), 采用正负离子模式切换采集数据。电喷雾电压: 正离子模式 3 500 V, 负离子模式 3 000 V; 鞘气: 27 Arb, 辅助气: 2 Arb, 吹扫气: 0; 离子传输管温度 270 ℃, 喷嘴温度 300 ℃; 扫描方式: 选择反应监测 (Selected Reaction Monitoring, SRM)。

SRM 模式的具体优化方法是: 对浓度为 2 mg/L 的单标农药标准溶液以 Full Scan Q1 模式进行母离子扫描, 每种化合物均采用正、负 2 种不同的离子模式优化, 选择其中使化合物信号较强、较稳定的离子模式。每种农药组分选择其对应的信号较强和稳定性良好的离子为母离子。确定母离子后, 进一步优化待测物的子离子、RF Lens 电压 (射频透镜电压)、CE 值 (碰撞能)。确定母离子与子离子后, 以 SRM 模式对 0.5 mg/L 的 3 种农药混合标准溶液进行分析。

1.2.4 样品前处理方法。准确称取匀浆状样品 10.0 g 于 50 mL 具塞离心管中, 加入 10.0 mL 乙腈, 使用高速分散机分散 1 min, 转速为 12 000 r/min, 加入 4 g 氯化钠, 再使用高速匀浆机以 12 000 r/min 的转速分散 1 min, 使用离心机以转速 8 000 r/min 离心 3 min。吸取上层有机提取液 1 mL 于

QuEChERS 净化管中, 涡旋振荡 30 s, 5 000 r/min 离心 2 min, 取上清液经 0.2 μm 滤膜过滤, 供高效液相色谱三重串联四级杆质谱测定。

1.2.5 方法学考察。

1.2.5.1 线性关系考察。采用空白基质匹配标准曲线定量, 逐步稀释配制成 10、20、50、100、200 μg/L 5 个浓度点, 经进样分析后, 以进样浓度 X (μg/L) 为横坐标、峰面积 Y 为纵坐标绘制标准曲线, 计算线性回归方程。

1.2.5.2 灵敏度考察。对加标浓度为 50 μg/L 的 9 种混合标准溶液进行测定, 以色谱图中 10 倍信噪比 ($S/N=10$) 为方法定量限 (LOQ)。

1.2.5.3 精密度与加标回收率考察。在空白白粉葛中以 50、100、200 μg/L 3 个不同浓度点添加 9 种混合标准溶液, 按“1.2.4”的方法进行加标回收试验, 按“1.2.2”和“1.2.3”的方法进行仪器分析, 每个水平重复进样 6 次。

2 结果与分析

2.1 SRM 模式优化结果 对每种化合物分别采用正、负离子模式进行优化后, 发现不同的化合物信号最强、最稳定时所采取的模式不同。其中甲拌磷及其代谢物、克百威及其代谢物采取正离子扫描模式, 氟虫腈及其代谢物采取负离子扫描模式。除此之外, 不同的化合物其加或减 H^+ 或 NH_4^+ 或 Na^+ 或 K^+ 的信号和稳定性不同, 大部分化合物加或减 H^+ 信号较强较稳定, 少部分选择加或减 NH_4^+ 的母离子较适用于检测。在优化过程中发现, 在该试验条件下, 所涉及化合物加或减 H^+ 的信号和稳定性最好。9 种化合物经优化后的质谱参数见表 1。

表 1 9 种农药的保留时间、质量分析参数

Table 1 Retention times and mass spectrometric parameters of 9 pesticides

序号 No.	农药 Pesticide	保留时间 Retention time//min	极性 Polarity	母离子 Parent ion (m/z)	子离子 Daughter ion (m/z)	碰撞能 Collision energy//V	透镜电压 Lens voltage V
1	克百威	7.97	正	222.1	123.1	19.6	71
				222.1	137.1	18.4	71
				222.1	165.0	10.3	71
2	3-羟基克百威	5.93	正	238.0	163.1	13.8	109
				238.0	181.0	10.3	109
				238.0	220.0	10.3	109
				261.1	130.1	21.5	122
3	甲拌磷	5.93	正	261.1	163.1	10.3	122
				261.1	220.1	10.8	122
				276.9	142.9	18.9	100
4	甲拌磷亚砷	8.19	正	276.9	170.9	12.6	100
				276.9	198.9	10.3	100
				292.9	143.0	17.0	131
5	甲拌磷砷	9.42	正	292.9	171.0	10.3	131
				292.9	246.9	10.3	131
				388.9	281.9	30.9	133
6	氟甲腈	12.54	负	388.9	350.9	10.3	133
				388.9	352.9	10.3	133
				420.9	263.9	26.9	122
7	氟虫腈亚砷	13.19	负	420.9	382.9	10.3	122
				420.9	384.9	10.3	122
				437.2	251.9	24.9	135
8	氟虫腈	12.08	负	437.2	329.9	12.5	135
				437.2	331.9	12.8	135
				452.9	281.9	26.1	164
9	氟虫腈砷	13.14	负	452.9	414.9	14.8	164
				452.9	416.8	14.7	164

2.2 方法学考察

2.2.1 线性关系考察。按“1.2.5.1”方法操作,计算线性回归方程,结果表明,9种农药组分在10~200 μg/L有良好的线性关系,其相关系数均大于0.995。

性关系,其相关系数均大于0.995。

2.2.2 灵敏度考察。按“1.2.5.2”方法操作,结果表明(表2),9种农药组分的定量限(LOQ)为0.38~5.88 μg/kg。

表2 9种农药的定量限、平均回收率、精密度(n=6)

Table 2 LOQ, average recovery and precisions of 9 pesticides (n=6)

序号 No.	农药 Pesticide	定量限 LOQ μg/kg	添加浓度 Added concentration//50 μg/kg		添加浓度 Added concentration//100 μg/kg		添加浓度 Added concentration//200 μg/kg	
			回收率 Recovery rate//%	RSD %	回收率 Recovery rate//%	RSD %	回收率 Recovery rate//%	RSD %
1	克百威	1.41	112.4	5.6	113.7	8.2	115.5	7.1
2	3-羟基克百威	0.76	95.2	6.9	107.2	5.4	119.4	5.3
3	甲拌磷	5.88	84.6	8.2	81.7	10.9	85.9	12.4
4	甲拌磷亚砷	0.46	89.9	6.8	97.2	6.5	95.7	9.3
5	甲拌磷砷	0.86	92.3	8.5	88.7	10.8	94.9	11.6
6	氟甲腈	0.38	102.8	4.5	115.7	6.4	109.7	8.8
7	氟虫腈亚砷	0.59	104.6	6.2	112.3	5.2	97.5	9.6
8	氟虫腈	1.00	102.4	7.3	94.7	10.9	98.2	8.2
9	氟虫腈砷	0.51	106.8	9.8	109.7	6.2	114.2	6.6

2.2.3 精密度与加标回收率考察。按“1.2.5.3”方法操作,经添加回收试验,9种农药组分中3个加标浓度点的加标回收率为81.7%~119.4%,RSD为4.5%~12.4%(表2)。从表2还可看出,该试验分析方法的准确度、精密度、灵敏度均满足国内外对农药残留分析测定的要求。

3 结论

该试验利用高效液相色谱-质谱联用仪测定合水粉葛中氟虫腈、甲拌磷、克百威及其代谢物,使用QuEChERS分散固相萃取净化管,采用选择反应监测(SRM)方式进行数据采集,建立了同时检测氟虫腈等9种农药组分残留的方法,做到了既检测农药母体本身又检测代谢物,从而提高了检测效率与准确度。该方法操作简单、快速,有良好的灵敏度、准确度和精密度,能满足农药残留分析测定的要求。

参考文献

[1] 国家质量监督检验检疫总局.关于批准对合水粉葛实施地理标志产品

保护的公告(质检总局2006年第56号公告)[EB/OL].(2006-04-16)[2018-01-20].<http://www.eshian.com/laws/9595.html>.

- [2] 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局.食品中农药最大残留限量:GB 2763—2016[S].北京:中国标准出版社,2016.
- [3] 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局.水果和蔬菜中500种农药及相关化学品残留量的测定 气相色谱-质谱法:GB 23200.8—2016[S].北京:中国标准出版社,2016.
- [4] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局.进出口食品中氟虫腈残留量检测方法 气相色谱-质谱法:SN/T 1982—2007[S].北京:中国标准出版社,2007.
- [5] 中华人民共和国农业部.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的测定:NY/T 761—2008[S].北京:中国农业出版社,2008.
- [6] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局.水果和蔬菜中450种农药及相关化学品残留量的测定 液相色谱-串联质谱法:GB/T 20769—2008[S].北京:中国标准出版社,2008.
- [7] 张慧丽,王建华,李馨,等.气相色谱串联质谱法测定蔬菜中甲拌磷和克百威及其代谢物的残留量[J].化学分析计量,2016,25(1):10-14.
- [8] 吴成,任海雷,赵志强,等.液相色谱-串联质谱法检测芹菜中氟虫腈及其代谢物残留[J].福建分析测试,2016,25(5):37-41.
- [9] 崔读昌.关于冻害、寒害、冷害和霜冻[J].中国农业气象,1999,20(1):56-57.
- [10] 张世才.论红肉火龙果的越冬防护及栽培技术[J].吉林农业,2012(1):74,73.
- [11] 钟志成,邓明,丘志华,等.广宁县种植沙糖桔的气候适应性和不利性分析[J].广东气象,2012,34(1):53-55.

(上接第123页)

[9] 蒋礼珍,黄欲晓.火龙果在钦州种植的气候优势[J].农业科技通讯,2010(2):154-155.

[10] 赵辉,米鸿涛,杜子璇.基于AHP的模糊综合评判在茶叶气候种植区划中的应用[J].气象科技,2013,41(6):1134-1137.

科技论文写作规范——缩略语

采用国际上惯用的缩略语。如名词术语DNA(脱氧核糖核酸)、RNA(核糖核酸)、ATP(三磷酸腺苷)、ABA(脱落酸)、ADP(二磷酸腺苷)、CK(对照)、CV(变异系数)、CMS(细胞质雄性不育性)、IAA(吲哚乙酸)、LD(致死剂量)、NAR(净同化率)、PMC(花粉母细胞)、LAI(叶面积指数)、LSD(最小显著差)、RGR(相对生长率),单位名缩略语IRRI(国际水稻研究所)、FAO(联合国粮农组织)等。对于文中有些需要临时写成缩写的词(如表及图中由于篇幅关系以及文中经常出现的词而写起来又很长时),则可取各主要词首字母写成缩写,但需在第一次出现处写出全称,表及图中则用注解形式在下方注明,以便读者理解。