

李萍萍, 程景, 张振山, 等. 气相色谱-串联质谱法测定菠萝蜜中的百菌清、克菌丹和己唑醇残留[J]. 农药, 2016, 55(8): 593-596.

气相色谱 - 串联质谱法测定菠萝蜜中的百菌清、克菌丹和己唑醇残留

李萍萍¹ 程景² 张振山¹ 吴学进¹

(1.中国热带农业科学院 分析测试中心,海口 571101 2.黑龙江省农产品质量检验检测中心,哈尔滨 150090)

摘要 [目的]建立同时测定菠萝蜜中百菌清、克菌丹和己唑醇农药残留的气相色谱串联质谱(GC-MS/MS)分析方法。[方法]样品经乙腈提取,采用石墨氨基固相萃取柱浓缩与净化,多反应监测模式(MRM)下进行质谱检测,外标法定量。[结果]百菌清、克菌丹和己唑醇的最低检出限分别为0.002、0.003、0.002 mg/kg,定量限均为0.01 mg/kg。添加质量分数在0.01~0.2 mg/kg时3种供试农药的平均添加回收率为78.3%~86.7%,相对标准偏差(RSD)≤6.2%。[结论]该方法简单可靠、重现性好、灵敏度高,适用于菠萝蜜中百菌清、克菌丹和己唑醇的农药残留检测。

关键词: 气相色谱 - 串联质谱; 固相萃取; 菠萝蜜; 农药残留

中图分类号: TQ450.2 文献标志码: A 文章编号: 1006-0413(2016)08-0593-04

Simultaneous Determination of Chlorothalonil, Captan and Hexaconazole Residues in Jackfruit by Gas Chromatography-tandem Mass Spectrometry

LI Ping-ping¹, CHENG Jing², ZHANG Zhen-shan¹, WU Xue-jin¹

(1.The Center of Analytical Test, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Haikou 571101, China;

2.Quality Inspection and Test Center for Agricultural Products of Heilongjiang Province, Haerbin 150090, China)

Abstract: [Aims] An analytical method for simultaneous determination of chlorothalonil, captan and hexaconazole residues in jackfruit by gas chromatography-tandem mass spectrometry (GC-MS/MS) was developed. [Methods] The jackfruit samples were extracted with acetonitrile, and then purified and concentrated on carbon/NH₂ SPE column. The target compounds were determined under multiple reaction monitoring (MRM) mode and quantified by external standard method. [Results] The limits of detection for chlorothalonil, captan and hexaconazole were 0.002, 0.003 and 0.002 mg/kg, respectively, and the limits of quantitation were all 0.01 mg/kg. The average recoveries at the fortified levels of 0.01, 0.05 and 0.2 mg/kg were in the range of 78.3 to 86.7%, and the relative standard deviations (RSDs) were less than 6.2%. [Conclusions] The method is simple, reliable, with good reproducibility and sensitivity, which is applicable for analysis of chlorothalonil, captan and hexaconazole residues in jackfruit.

Key words: gas chromatography-tandem mass spectrometry (GC-MS/MS); solid-phase extraction (SPE); jackfruit; pesticide residue

DOI:10.16820/j.cnki.1006-0413.2016.08.013

菠萝蜜 (*Artocarpus heterophyllus* Lam.) 是桑科 (Moraceae) 菠萝蜜属, 别名木菠萝、树菠萝, 是世界上最大最重的水果, 素有“热带珍果”之称^[1-3]。目前危害菠萝蜜的主要病虫害有炭疽病、花果软腐病、蒂腐病等^[4]。百菌清、克菌丹和己唑醇作为杀菌剂对多种作物的炭疽病、软腐病、霜霉病等病害有良好的灭杀效果^[5-8], 但农药不合理的使用导致这些农药在杀灭微生物的同时, 往往也会污染菠萝蜜产品。

关于这三种农药的定性定量检测方法, 国内外学者已

有较多的报道。目前, 百菌清^[9-11]、克菌丹^[12-14]和己唑醇^[15-17]的检测方法主要有气相色谱法、气相色谱-质谱法、液相色谱法以及液相色谱-质谱法。但目前尚未见同时检测菠萝蜜中这三种农药残留量的报道。鉴于菠萝蜜中含有大量的糖类、色素、蛋白质等成分, 这些成分对农药的测定会产生一定的干扰, 而固相萃取净化效果好, 另外气相色谱串联质谱的抗干扰能力强, 灵敏度较其他仪器更高, 因此, 本文通过优化提取方法, 建立了SPE-GC-MS/MS同时测定菠萝蜜中百菌清、克菌丹和己唑醇残留的分析方法。

收稿日期: 2016-03-28, 修返日期: 2016-04-18

基金项目: 农业部农产品质量安全风险评估专项(GJFP201600301-1)

作者简介: 李萍萍(1985—)女, 助理研究员, 研究方向: 农药残留与分析。E-mail: lipingping305@163.com。

通讯作者: 张振山(1990—)男, 江西赣州人, 研究方向: 农产品质量安全。E-mail: zhenshanzhang@163.com。

1 实验部分

1.1 仪器、试剂与材料

Agilent 7890A-7000A气相色谱-三重四级杆串联质谱仪(美国Agilent公司);真空旋转蒸发仪(上海豫康科教仪器设备有限公司);百分之一电子天平(北京赛多利斯科学仪器公司);万分之一电子天平(上海梅特勒-托利多仪器有限公司);KAT 18高速均质器(德国IKA公司);涡旋混合仪(上海青浦沪西仪器厂);高速冷冻离心机(美国VISION公司);石墨化炭黑-氨基固相萃取小柱(500 mg,日本岛津公司产品);Florisil固相萃取小柱(500 mg,美国Agilent公司);氨基固相萃取小柱(500 mg,德国Simon Aldrich公司)。

乙腈、乙酸乙酯、正己烷和丙酮(色谱纯,德国Merck公司);甲苯和氯化钠(分析纯,北京化工厂);百菌清标准品储备溶液(质量浓度为1000 mg/L,天津农业部环境质量监督检验测试中心);克菌丹(纯度99.0%)和己唑醇(纯度99.0%)标准品(德国Dr. Ehrenstorfer公司)。菠萝蜜样品购自海口农贸市场,菠萝蜜去皮去籽,取可食部分制成糜样,冷冻保存在-18℃冰箱中备用。

1.2 标准溶液及基质标准溶液的配制

标准溶液:用万分之一电子天平准确称取克菌丹和己唑醇2种农药标准品各10 mg(精确至0.1 mg)分别置于10 mL容量瓶中,用甲醇溶解并定容至刻度,配制成1000 mg/L标准储备液,于-18℃冰箱保存。准确量取百菌清、克菌丹和己唑醇(质量浓度均为1000 mg/L)标准品储备液以正己烷进行溶解稀释配成质量浓度为10 mg/L的混合标准储备液,于-18℃冰箱保存。

基质匹配标准工作溶液和溶剂标准工作液:按样品前处理方法制得空白样品(未有3种目标农药检出)提取液即基质溶液,分别以正己烷和基质溶液稀释混合标准储备液配制系列质量浓度的基质匹配工作液和纯溶剂混合标准工作液,现配现用。

1.3 实验方法

1.3.1 样品前处理

将菠萝蜜样品解冻后快速称取10.00 g样品于50 mL离心管中,加入20 mL乙腈、5 g氯化钠,用均质仪高速匀浆提取,以5000 r/min转速离心4 min,取上清液10 mL于鸡心瓶中,真空旋转蒸发至净干,加入5 mL甲苯-乙腈(体积比1:3)混合液溶解,作为上样液待净化。

用5 mL甲苯-乙腈(体积比1:3)混合液活化石墨氨基固相萃取柱,当溶剂液面达到固相柱吸附层时再倒入上样液,同时立即用鸡心瓶收集洗脱液。用18 mL甲苯-乙腈(体积比1:3)分3次洗涤鸡心瓶,倒入固相萃取小柱内。

将接收到的洗脱液旋转蒸发至近干,最后用正己烷定容至2.0 mL,待测。

1.3.2 GC-MS/MS条件

色谱柱:HP-5MS毛细管柱(30 m×0.25 mm×0.25 μm,美国Agilent公司);恒流模式,流速1.0 mL/min;进样口温度250℃;载气:He 99.999%;离子源温度230℃;E能量70 eV;四级杆温度150℃;质谱接口温度280℃;进样量1.0 μL;进样方式:不分流进样;柱温升温程序:初始温度80℃(保持3.0 min),以15℃/min升至200℃,再以10℃/min升至280℃(保持10.0 min)。电离模式:电子轰击,Q1碰撞气N₂ 99.999%,流速1.8 mL/min,Q2碰撞气He 99.999%,流速2.50 mL/min;溶剂延迟时间4 min;扫描方式:多反应监测模式(MRM)。3种农药的保留时间及质谱条件见表1。

表1 3种农药的保留时间及在MRM模式下的优化质谱参数

编号	化合物	保留时间/ min	定量离子对 (<i>m/z</i>)	定性离子对 (<i>m/z</i>)	碰撞能量/ eV
1	百菌清	15.87	266/133	266/231	35/20
2	克菌丹	22.30	79/77	149/79	10/10
3	己唑醇	24.31	175/111	214/187	22/17

2 结果与讨论

2.1 样品前处理条件的优化

2.1.1 提取剂的选择

分别比较了乙腈、丙酮和乙酸乙酯3种有机溶剂对菠萝蜜中百菌清、克菌丹和己唑醇3种农药的萃取效果。发现乙酸乙酯在对菠萝蜜的萃取过程中样品分散性不好,容易成团黏贴在离心管壁上,农药提取效率不高。丙酮作为提取溶剂时,在提取农药的同时也提取了大量的色素等杂质,且提取液浓缩后溶液黏稠度高,导致后续净化困难。乙腈作为提取溶剂,样品加入乙腈均质后样品分散性较好,加盐脱水时提取液分层容易,溶液清澈不易乳化。采用乙腈提取菠萝蜜基质加标样品(添加水平0.2 mg/kg),发现百菌清、克菌丹和己唑醇回收率均为80%以上,因此为了提高农药回收率故选用乙腈为提取剂。

2.1.2 固相萃取柱的优化

农药残留检测中常用的固相萃取柱有Florisil柱、氨基柱和石墨化炭黑/氨基混合型柱。Florisil柱通用性好,对大部分农药均具有很好的提取效果。氨基柱主要吸附基质中的极性化合物(如碳水化合物、色素)、有机酸、酚类等干扰物质。石墨化炭黑/氨基混合型柱可以有效除去基质中的色素、糖类、甾醇等杂质。实验比较了这3种固相萃取柱的净化及回收效果,结果表明石墨化炭黑/氨基混合型柱能有效去除基质中的色素、糖类、有机酸等杂质,且回收率高,因此选择石墨化炭黑/氨基柱对样品进

行净化。

2.1.3 洗脱溶剂的优化

选择石墨化炭黑/氨基柱对样品进行净化,考察了甲苯-乙腈(体积比1:3)、丙酮-丙酮-正己烷(体积比3:7)三种溶剂的洗脱效果。结果表明丙酮洗脱时杂质较多,农药的基质效应较高。丙酮-正己烷(体积比3:7)洗脱时农药的回收率在60%~90%之间。甲苯-乙腈(体积比1:3)洗脱时农药的回收率达75%以上。故本文选择甲苯-乙腈(体积比1:3)为洗脱剂。

2.1.4 洗脱体积的优化

在空白样品中添加3种农药混合标准溶液(添加水平0.5 mg/kg),按照1.3.1进行样品前处理,加入48 mL洗脱溶剂,每6 mL收集1次洗脱液,计算每次流出液中的农药残留量。结果表明洗脱溶液体积为18 mL时农药的加标回收率达80%以上,超过18 mL的洗脱液中农药残留量很少,所以为了减少溶剂对环境的污染以及检测成本,选择洗脱液甲苯-乙腈(体积比1:3)体积为18 mL。

2.2 质谱条件的选择

分别将3种农药标准品溶液(2.00 mg/L)进行全扫描分析,确定每种农药的保留时间,通过NIST普库检索选择信号响应值高、质核比大且特征性强的离子作为母离子。然后采用子离子扫描方式进行二级质谱分析,选择2个或3个离子作为子离子,最后在MRM模式下,对选择子离子的碰撞能量进行优化。经反复测试、优化,得到3种待测物的质谱条件(见表1)。选择丰度最高的一对子离子进行定量分析,选择丰度次高的一对子离子进行定性分析,图1是3种农药混合标准溶液在表1条件下得到的MRM总离子流色谱图。

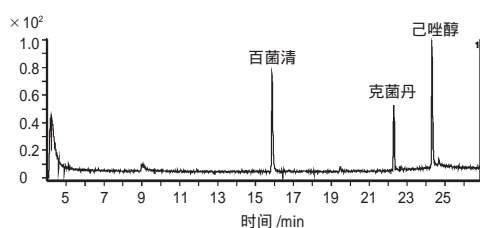


图1 3种农药标准品(0.2 mg/L)的MRM色谱图

2.3 基质效应的考察

基质效应是指样品基质中的某些共提取物对目标物浓度或质量测定精确度的影响。以相同浓度分析物在空白基质标准溶液和溶剂标准工作液中的平均响应值比值 η 来评价基质效应的大小。 $\eta > 1.2$ 表明基质增强, $\eta < 0.8$ 表明基质抑制, $0.8 < \eta < 1.2$ 表明无显著的基质效应。

图2清楚的说明了基质效应对3种农药响应信号的影响大小。从图中可以看出菠萝蜜基质对百菌清、己唑醇和克菌丹3种农药均没有显著的基质效应。因此为了

节约时间和成本,本实验采用溶剂标准溶液进行校正。

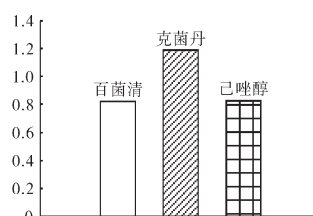


图2 3种农药的基质效应

2.4 线性方程、定量限、回收率和精密度

2.4.1 线性方程和定量限

将一定浓度的基质混合标准工作溶液按1.3.2节所述条件测定,以百菌清、己唑醇、克菌丹标准溶液的含量为横坐标,定量离子对响应峰面积为纵坐标建立标准曲线,对测定结果进行线性相关分析。结果表明,在0.01~1.00 mg/kg范围内线性关系良好(见表2)。

表2 3种农药的线性回归方程、决定系数、检出限和定量限

化合物	线性方程($y=$)	决定系数	检出限/($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	定量限/($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)
百菌清	$83\ 078x - 896$	0.9984	0.002	0.01
克菌丹	$60\ 468x - 275$	0.9932	0.003	0.01
己唑醇	$109\ 257x - 428$	0.9911	0.002	0.01

以正己烷配制溶剂混合标准溶液,在选定的色谱条件和质谱条件下进行测定,在相应的出峰时间处,根据定量离子色谱峰的信噪比 $S/N \geq 3$ 确定方法的检出限, $S/N \geq 10$ 确定方法的定量限。通过实际添加回收试验,最终确定菠萝蜜中百菌清、克菌丹、己唑醇的定量限均为0.01 mg/kg,检出限为0.002~0.003 mg/kg。

2.4.2 方法的加标回收率和精密度

以空白菠萝蜜样品,分别添加不同质量分数的标准溶液,进行添加回收率和精密度试验。0.01、0.05、0.2 mg/kg添加水平下,每个平行测定6次。结果见表3,不同水平下各待测物的平均回收率为78.3%~86.7%,相对标准偏差为1.5%~6.2%,能满足3种农药的定量分析要求。

表3 回收率和精密度检测结果 ($n=6$)

化合物	回收率/%	RSD/%	回收率/%	RSD/%	回收率/%	RSD/%
百菌清	79.5	1.5	84.2	2.7	80.5	6.2
克菌丹	83.4	3.8	78.3	5.6	83.2	3.7
己唑醇	85.9	5.4	86.7	4.3	81.1	5.2

3 结论

实验采用气相色谱-串联质谱技术建立了菠萝蜜中百菌清、己唑醇、克菌丹残留量同时检测和确证的方法。对提取溶剂、固相萃取柱等前处理条件以及基质效应进行了考察,并对串联质谱条件进行了优化,采用溶剂标准溶液绘制标准曲线,保证了定量的准确性。实验结果

表明,串联质谱检测能降低基质干扰、提高分析的灵敏度和准确度,该方法操作简便、检出限低、准确度高,能够满足菠萝蜜产品中百菌清、己唑醇和克菌丹的残留分析的要求。

参考文献:

- [1] 叶春海, 吴钊, 丰锋, 等. 菠萝蜜种质资源调查及果实性状的相关分析[J]. 热带作物学报, 2006, 27(1): 28-32.
- [2] 王亚懂, 蔡玉祺. 菠萝蜜常见病虫害的识别与防治[J]. 吉林农业, 2014(7): 92.
- [3] 李瑞梅, 胡新文, 郭建春, 等. 菠萝蜜研究概述[J]. 亚热带植物科学, 2007, 36(2): 77-80.
- [4] 刘爱勤, 桑利伟, 孙世伟, 等. 海南省菠萝蜜主要病虫害识别与防治[J]. 热带农业科学, 2012, 32(12): 64-69.
- [5] 周欣, 藏晓欢, 王东跃, 等. 分散液相微萃取-气相色谱法联用测定葡萄中百菌清、克菌丹和灭菌丹残留[J]. 分析化学, 2009, 37(1): 41-45.
- [6] 王玲玲, 侯玉泽, 职爱民, 等. 食品中百菌清残留检测方法研究进展[J]. 食品科学, 2013, 34(7): 326-329.
- [7] 于彦彬, 王淑菊, 谭培功, 等. 固相萃取气相色谱法测定水果中克菌丹和灭菌丹[J]. 分析化学, 2008, 36(6): 750-754.
- [8] 张群, 刘春华, 吴南村, 等. 气相色谱-串联质谱法同时测定龙眼中的噻菌灵、多效唑、己唑醇[J]. 农药, 2014, 53(6): 423-425.
- [9] 彭淑文, 王秋泉, 方兰兰, 等. 气相色谱-质谱法同时测定水果中9种保鲜剂残留量[J]. 色谱, 2014, 32(1): 69-73.
- [10] 谢建军, 陈捷, 李菊, 等. 气相色谱-质谱法快速检测出口蔬菜中16种保鲜剂残留[J]. 食品安全质量检测学报, 2013, 4(1): 82-88.
- [11] 马智玲, 赵文, 李凌云, 等. 气相色谱-三重四级杆串联质谱法快速测定蔬菜水果中129种农药的残留量 [J]. 色谱, 2013, 31(3): 228-239.
- [12] 樊苑牧, 俞雪钧, 谢东华, 等. 气相色谱法测定水果蔬菜中克菌丹残留[J]. 中国卫生检验杂志, 2006, 16(1): 28-29.
- [13] 邵永源, 修长泽, 吴会进. 高效液相色谱法同时测定水果中克菌丹和灭菌丹残留量[J]. 预防医学论坛, 2007, 13(9): 827-829.
- [14] 王淑菊, 于彦彬, 谭培功, 等. 固相萃取-高效液相色谱法同时测定苹果中残留的克菌丹和灭菌丹[J]. 色谱, 2007, 25(2): 226-229.
- [15] 付晓芳, 李晶, 王鹏, 等. 气相色谱-串联质谱法检测果蔬中己唑醇残留[J]. 食品科学, 2012, 33(4): 227-229.
- [16] 任红波, 张永忠, 张晓波, 等. 稻米和土壤中己唑醇残留量的检测[J]. 中国稻米, 2010, 16(3): 28-29.
- [17] 杨尚春, 杨晓云, 宁焕焱, 等. MSPD-GC- μ ECD快速分析茶叶中己唑醇的残留[J]. 农药, 2010, 49(10): 750-752.

责任编辑 李新

(上接第 585 页)

- [22] 王彦华, 俞瑞鲜, 赵学平, 等. 新烟碱类和大环内酯类杀虫剂对四种赤眼蜂成蜂急性毒性和安全性评价[J]. 昆虫学报, 2012, 55(1): 36-45.
- [23] MAIENSFISCH P, HUERLIMANN H, RINDLISBACHER A, et al. The Discovery of Thiamethoxam: A Second-Generation Neonicotinoid[J]. Pest Manage Sci, 2010, 57: 165-176.
- [24] JORGE B, JOHN R. Toxicity of Thiamethoxam and Imidacloprid to *Podisus nigripinus* (Dallas) (Heteroptera: Pentatomidae) Nymphs Associated to Aphid and Whitefly Control in Cotton [J]. Neotrop Entomol, 2004, 33(1): 99-106.
- [25] 徐德进, 顾中言, 徐广春, 等. 吡蚜酮防治褐飞虱的使用技术及对天敌的安全性研究 [J]. 中国生态农业学报, 2010(5): 1054-1059.
- [26] 王胜得, 曾文平, 段湘生, 等. 高效杀虫剂吡蚜酮的合成研究及应用[J]. 农药研究与应用, 2007(6): 23-24.
- [27] 郎玉成, 倪珏萍, 刁亚梅. 吡嗪酮生物活性和应用技术研究进展[J]. 农药, 2007, 46(8): 513-516.
- [28] JANSEN J P. Toxicity of Fungicides Used in Wheat on Adults of *Aphidius rhopalosiphii* in Laboratory Tests with Plants Treated in the Field[J]. Integrated Control in Viticulture IOBC/wprs Bulletin, 2000, 22(9): 73-80.
- [29] 苏少泉. 除草剂毒性与安全性[J]. 世界农药, 2005(5): 1-5, 8.
- [30] 李浩, 杨星科, 刘强. 6种常用杀菌剂对苹果黄蚜及其天敌异色瓢虫的影响[J]. 环境昆虫学报, 2010(1): 60-65.
- [31] MILES M, COULSON M, DREXLER A, et al. An Evaluation of the Non-Target Arthropod Hazard Quotient Since ESCORT 2[C]. In book: ESCORT 3: Linking Non-target Arthropod Testing and Risk Assessment with Protection Goals., Anne Alix, Frank Bakker, Katie Barrett, Carsten A. (ed.) SETAC Press, 2010: 117-119.
- [32] 赵怡楠, 高景林, 王玉洁, 等. 新烟碱类农药对海南中蜂的急性毒性测定及风险评估[J]. 农药, 2014, 53(3): 206-209.
- [33] 吴迟, 姜辉, 王长宾, 等. 四种新烟碱类杀虫剂对蜜蜂的急性毒性及初级风险评估[J]. 农药学报, 2015, 17(4): 486-491.

责任编辑 李新

受不利气候等影响 巴西小麦发展情况低于预期

根据咨询机构 Trigo & Farinhas 的报道,巴西最主要的小麦产区巴拉纳州今年的小麦产量将低于预期。今年,该州农民的小麦种植面积为 114 万公顷,比去年减少了 15%。

巴拉纳州农业经济厅(Deral)估计,该州的 1%的小麦正处于发芽阶段,62%的小麦处于生长发育阶段,31%的小麦处于开花阶段,6%的小麦处于抽穗期。近期在该州东北部发生的霜冻现象将影响小麦的开花,进而影响产量。今年巴拉纳州的小麦产量预计为 340 万吨。

南里奥格兰德州是巴西小麦种植面积第二大的产区,但是关于该州的具体种植面积略微有些争议。根据咨询机构 Fecoagro 估计,其种植面积为 77 万公顷,而另一家咨询机构 Farsul 估计,其种植面积在 80 万~85 万公顷之间。该州小麦年产量在 200 万~250 万吨之间。在种植季初期的时候,该州的小麦被干燥的气候条件所影响,而目前则湿度过大。

巴西的第三大小麦产区是巴西南部的圣卡塔琳娜州,该州的小麦种植面积估计有 6.5 万公顷,年产量为 20 万吨。

一位巴西的种植专家 Conab 表示,2016 年巴西的小麦种植面积为 214 万公顷,同比减少了 12.5%,年产量预计为 628 万吨,同比增加了 13.5%。预计巴西国内的小麦消费量为 1050 万吨,预计进口的小麦将达到 530 万吨。