

气相色谱-串联质谱测定韭菜中的 氟氯氰菊酯残留量

张 群^{1,2,*}, 刘春华^{1,2}, 吴南村^{1,2}, 李萍萍^{1,2}

(1. 中国热带农科院分析测试中心, 海口 571101; 2. 海南省热带果蔬产品质量安全重点实验室, 海口 571101)

摘要: **目的** 建立了韭菜中测定氟氯氰菊酯的气相色谱-串联质谱(gas chromatography-tandem mass spectrometry, GC-MS/MS)分析方法。**方法** 样品用乙腈匀浆提取、盐析、石墨化碳黑/氨基混合型固相萃取柱净化、乙腈/甲苯(3:1, v:v)洗脱, 浓缩定容后检测。目标化合物经 SLB-5MS(30 m×0.25 mm×0.25 μm)色谱柱分离, 采用三重串联四级杆多反应监测模式(multiple reaction monitoring, MRM)进行定性定量分析。**结果** 在 0.05~0.50 mg/L 添加水平时($n=5$), 氟氯氰菊酯的回收率在 78.5%~98.0%之间, 相对标准差在 3.4%~8.3%之间。方法的线性范围为 0.05~0.50 mg/L, 决定系数 $R^2>0.99$, 该方法对氟氯氰菊酯的定量限为 0.05 mg/kg。**结论** 该方法能满足韭菜中氟氯氰菊酯残留检测的要求。

关键词: 韭菜; 氟氯氰菊酯; 气相色谱-串联质谱法

Determination of cyfluthrin pesticide residues in leek by gas chromatography-tandem mass spectrometry

ZHANG Qun^{1,2,*}, LIU Chun-Hua^{1,2}, WU Nan-Cun^{1,2}, LI Ping-Ping^{1,2}

(1. Analysis and Testing Center, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Haikou 571101, China;
2. Hainan Provincial Key Laboratory of Quality and Safety for Tropical Fruits and Vegetables, Haikou 571101, China)

ABSTRACT: Objective An analytic method was established for determination of cyfluthrin in leek by gas chromatography-tandem mass spectrometry (GC-MS/MS). **Methods** The samples were extracted with acetonitrile after homogenization. The organic phase was then separated from water phase by adding NaCl and further purified on carbon/NH₂ column with elution solvents of acetonitrile/toluene (3:1, v:v). Finally, the organic phase was concentrated and reduced for analysis. The target analytes were separated by capillary gas chromatography column SLB-5MS (30 m×0.25 mm×0.25 μm). A tandem quadrupole spectrometer was used for the qualitative and quantitative analysis of the constituents under multiple reaction monitoring (MRM). **Results** The average recoveries of three pesticides ranged from 78.5% to 98.0% with relative standard deviations (RSDs) of 3.4%~8.3% at the spiking levels from 0.05 mg/kg to 0.50 mg/kg ($n=5$). The calibration curve showed a good linearity in the range of 0.05~0.50 mg/L, with the coefficient of determination over 0.99 ($R^2>0.99$). The limit of quantitation (LOQs) was 0.05 mg/kg for cyfluthrin in leek. **Conclusion** The method is available for the determination of cyfluthrin pesticide residues in leek.

*通讯作者: 张群, 博士, 助理研究员, 主要研究方向为农药等有机污染物检测及污染修复方面的研究。E-mail: zhangqun123@zju.edu.cn

*Corresponding author: ZHANG Qun, Doctor, Research Associate, Analysis and Testing Center, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences & Hainan Provincial Key Laboratory of Quality and Safety for Tropical Fruits and Vegetables, No. 4, Xueyuan Road, Haikou 571101, China. E-mail: zhangqun123@zju.edu.cn

KEY WORDS: leek; cyfluthrin; gas chromatography-tandem mass spectrometry (GC-MS/MS)

1 引 言

韭菜(*Allium tuberosum*), 属百合科多年生草本植物, 在我国被广泛栽培, 是我国蔬菜中的重要品种。在韭菜的生产过程中, 常见的虫害有韭蛆、蓟马、葱须鳞蛾、斜纹夜蛾等^[1]。而氟氯氰菊酯作为一种合成的拟除虫菊酯类杀虫剂, 具有触杀和胃毒作用, 能有效地防治蔬菜上的鞘翅目、半翅目、同翅目和鳞翅目害虫, 特别适用于防治韭菜生产过程中的常见害虫。近年来, 食用韭菜后引起的中毒事件时有发生, 使得韭菜中农药残留问题日益成为消费者关注的焦点。我国现发布的《食品安全国家标准食品中农药最大残留限量》^[2](自 2014 年 8 月 1 日起施行)规定了韭菜中氟氯氰菊酯的最大残留限量为 0.5 mg/kg。因此, 建立一种测定韭菜中氟氯氰菊酯残留量的方法是非常必要的, 可以有效地回避潜在食用风险。

关于氟氯氰菊酯的定性定量检测方法, 国内外科研人员已有较多的探索, 主要有气相色谱法^[3-8]和气相色谱-质谱法^[9-14]。上述文献报道的主要是氟氯氰菊酯在果蔬、茶叶和烟草等基质中的残留, 有关韭菜中氟氯氰菊酯检测的报道比较少^[15-16]。笔者采用乙腈提取和石墨化碳黑/氨基混合型柱净化, 气相色谱-串联质谱(gas chromatography-tandem mass spectrometry, GC-MS/MS)检测, 建立了韭菜中氟氯氰菊酯残留检测的方法。

2 材料与方 法

2.1 仪器、试剂与材料

7000 三重串联四级杆气质联用仪(美国, Agilent 公司); T25 basic 高速匀浆机(广州仪科实验技术有限公司); RE52CS-1 旋转蒸发仪(上海亚荣生化仪器厂); EB-280-12 电子顶载天平(日本岛津公司); QL-901 漩涡混合器(江苏海门其林医用仪器厂); 毛细管气相色谱柱 SLB-5MS(美国 Supelco 公司); 石墨化碳黑/氨基混合型固相萃取柱(Agilent Technologies Carbon/NH₂, 500 mg/6 mL)。

氟氯氰菊酯标准品, 纯度 99%(天津农业部环境质量监督检验测试中心)。乙腈、正己烷(HPLC 级, 美国 Fisher); 其余试剂均为市售分析纯。

韭菜, 购于海南市场。

2.2 标准溶液及基质标准溶液的配制

标准溶液配制: 氟氯氰菊酯用正己烷配制成 100 mg/L 标准储备液, 于-18 °C 保存。

基质溶液标准品的配制: 按样品前处理方法将空白样品(未有目标农药检出的样品)配制成基质溶液, 用基质溶液稀释标准储备液制备成所需的定量混合标准品, 临用现配。

2.3 样品前处理

取具有代表性的样品约 1000 g, 用粉碎机粉碎, 混匀, 装入洁净的密封罐中, 标明编号, 于-20 °C 保存。提取过程依据“NY/T 761-2008”标准方法^[17]进行, 净化过程: 固相萃取柱中加 5 mL 乙腈/甲苯(3:1, v:v)预洗柱, 当液面接近柱吸附层表面时, 立即加入用 2 mL 乙腈/甲苯(3:1, v:v)预洗圆底烧瓶的待净化溶液, 用 100 mL 圆底烧瓶收集洗脱液, 再用 2 mL 乙腈/甲苯(3:1, v:v)洗圆底烧瓶后过柱, 并重复两次; 最后用 20 mL 乙腈/甲苯(3:1, v:v)洗脱农药, 合并于 100 mL 圆底烧瓶中。将合并液体后的圆底烧瓶于 40 °C 水浴真空旋转蒸发近干, 氮气吹干后, 用正己烷定容至 5 mL, 在混合器上混匀后, 若样品含量较低时, 可以定容至 2 mL, 待气相色谱-串联质谱仪测定。

2.4 检测条件

2.4.1 色谱条件

色谱柱: 毛细管气相色谱柱 SLB-5MS(30 m×0.25 mm×0.25 μm); 程序升温条件: 初始温度 120 °C, 以 30 °C/min 升温至 240 °C, 以 5 °C/min 升温至 280 °C, 保持 2 min; 总运行时间: 14.0 min; 载气: 氦气, 纯度 99.999%; 恒流模式, 流速, 1.00 mL/min; 进样口温度: 260 °C; 进样量: 1 μL; 进样方式: 不分离进样。

2.4.2 质谱条件

碰撞气流速: 氦气 1.50 mL/min, 氮气 2.25 mL/min; 离子源: 电子轰击源: 70 eV; 正离子扫描方式; 离子源温度 230 °C; 溶剂延迟 4.00 min; 多反应监测(multiple reaction monitoring, MRM)模式。氟氯氰菊酯的保留时间及在多反应监测模式下的定性和定量离子、碰撞能量见表 1。

表 1 氟氯氰菊酯的保留时间及在多反应监测模式下的定性和定量离子、碰撞能量

Table 1 Retention time, quantitative and qualitative ions, and collision energies for cyfluthrin in MRM mode

农药名称	保留时间/min	定量离子 (m/z)	定性离子 (m/z)	碰撞能量 /eV
氟氯氰菊酯 1	11.76	163/91	163>91 163>127	5 14
氟氯氰菊酯 2	11.89	163/91	163>91 163>127	5 14
氟氯氰菊酯 3	11.99	163/91	163>91 163>127	5 14
氟氯氰菊酯 4	12.05	163/91	163>91 163>127	5 14

3 结果与讨论

3.1 样品前处理条件优化

3.1.1 提取剂的选择

比较了 3 种常用提取剂——乙腈、丙酮和正己烷的回收率, 在 0.50 mg/kg 添加水平下, 这三种提取剂平均回收率范围及相对标准偏差范围分别为 98.0%±3.4%, 81.7%±6.3%, 85.6%±5.7%, 发现以乙腈为提取剂时, 样品回收率最高, 故选用乙腈为提取剂。

3.1.2 固相萃取柱的优化

据报道韭菜中含有挥发油及硫化物、蛋白质、脂肪、糖类、维生素 B、维生素 C 等干扰检测物质^[18]。本实验比较了农残检测中常用的固相萃取柱有 NH₂ 柱、Carbon 柱和 Carbon/NH₂ 混合型柱的净化和回收效果, 结果表明: 利用 Carbon/NH₂ 混合型柱净化不仅能有效去除糖类、有机酸等杂质干扰, 还可以有效

去除色素的影响, 且回收率较高, 故选之进行净化。

3.2 待测农药定量和定性离子的选择

首先, 将氟氯氰菊酯的标准品溶液(1.00 mg/L)在 m/z 0~500 之间进行全扫描分析(full scan), 确定每种农药的保留时间(见表 1)和质谱图(见图 1)。从质谱图中找出各组分的一级碎片离子作为母离子, 母离子的选择主要考虑五个方面因素: 特征性高、质量数高、对称性高、重现性好且与柱流失碎片离子不同。综合考虑, 选择适宜的离子初步定为母离子。其次, 选择子离子, 应用离子轰击扫描对母离子在不同碰撞能量下进行电离轰击, 确定二级质谱图, 选择强度较大、灵敏度高的为子离子。对每一组离子对分别选择不同碰撞能量进行扫描, 以响应强度大小为依据对碰撞能量进行选择, 使得最终监测的子离子产生最强响应。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, 表 1 给出了优化后的多反应监测条件。图 2 是氟氯氰菊酯标准品、基质加标(0.50 mg/L)以及基质空白在表 1 条件下得到的多反应监测总离子流图, 从图中可以看出在 MRM 色谱图不受基质干扰, 所有谱峰峰形尖锐, 对称性好, 各谱峰间完全分离。

3.3 线性方程、定量限、回收率和精密度

3.3.1 线性方程

将一定浓度的混合标准工作溶液, 按 2.4 节所述分析条件测定, 以氟氯氰菊酯标准溶液的浓度为横坐标、峰面积为纵坐标, 绘制线性关系曲线, 对测定结果进行线性相关分析。结果表明, 在 0.05~0.50 mg/kg 范围内线性关系良好(表 2)。

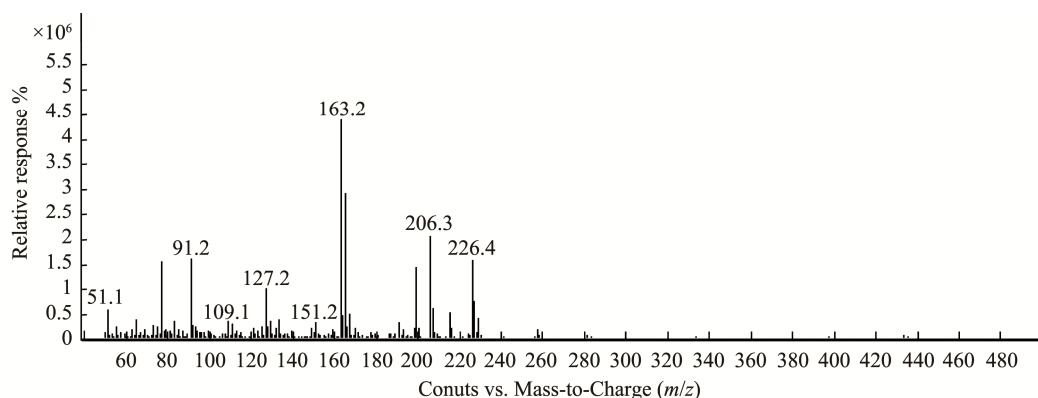
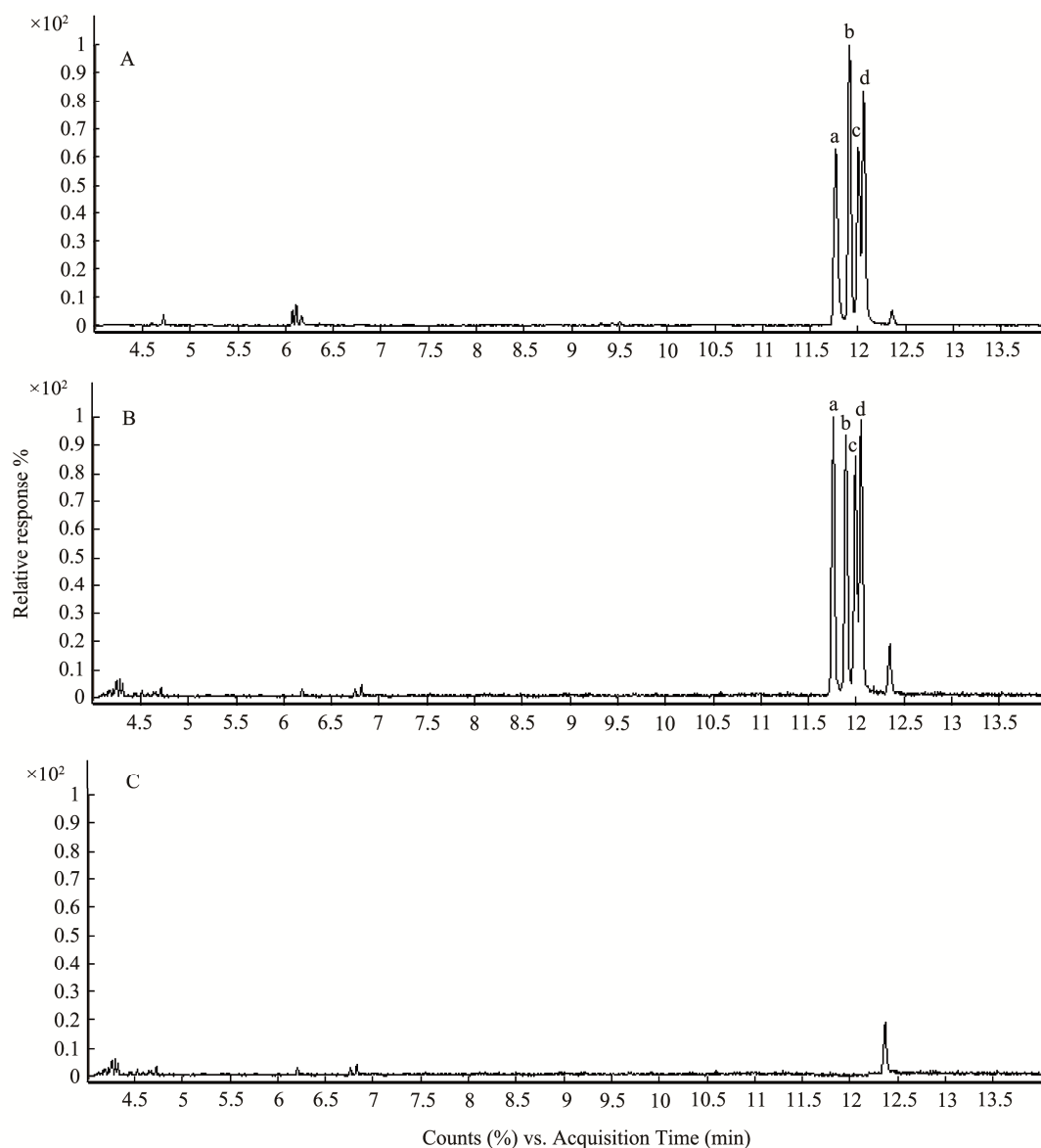


图 1 氟氯氰菊酯标准品(1.00 mg/L)的质谱图

Fig. 1 Full-scan MS spectrum of cyfluthrin standard(1.00 mg/L)



色谱图: A. 标准品的 MRM 色谱图; B. 基质加标的 MRM 色谱图; C. 基质空白的 MRM 色谱图。
峰: a. 氟氯氰菊酯 1; b. 氟氯氰菊酯 2; c. 氟氯氰菊酯 3; d. 氟氯氰菊酯 4.

图 2 多反应监测(MRM)色谱图 (0.50 mg/L)

Fig. 2 MRM spectrum (0.50 mg/L)

表 2 氟氯氰菊酯的线性回归方程、相关系数及线性范围

Table 2 Linear equations, correlation coefficient and linear ranges of cyfluthrin

农药名称	线性方程	决定系数(R^2)	线性范围(mg/kg)
氟氯氰菊酯	$Y=7.619 \times 10^3 X - 193.5$	0.9990	0.05~0.50

Y: peak area of the quantitative ion; X: content of the ananalyte, mg/kg.

3.3.2 定量限

根据 3 倍信噪比(S/N)计算韭菜中氟氯氰菊酯的检出限(LOD)为 1×10^{-3} mg/kg; 根据 10 倍信噪比确定

其定量限(LOQ)为 3×10^{-3} mg/kg。通过实际添加回收试验, 最终确定韭菜中氟氯氰菊酯的定量限为 0.05 mg/kg, 此时 5 次试验的平均回收率为 78.5%, 相对标

准偏差(RSD)为 8.3%。

3.3.3 回收率和精密度

在 0.05、0.10、0.50 mg/kg 3 个添加水平下, 韭菜中氟氯氰菊酯残留的平均回收率范围为 78.5%~98.0%; 5 次平行测定的相对标准偏差范围为 3.4%~8.3%, 均满足定量分析要求, 结果见表 3。

表 3 氟氯氰菊酯的加标回收率及其相对标准偏差($n=5$)
Table 3 Average recoveries and relative standard deviations (RSDs) of cyfluthrin($n=5$)

农药名称	添加值 (mg/kg)	回收率/%	相对标准偏 差/%
氟氯氰菊酯	0.05	78.5	8.3
	0.10	83.6	6.9
	0.50	98.0	3.4

4 结 论

本试验采用气相色谱-串联质谱技术建立了韭菜中氟氯氰菊酯残留量的检测和被确切证实的方法。实验结果表明, 串联质谱的检测方法能够避免杂质的干扰, 能很好地排除基质干扰, 还能够提高分析的选择性和检测灵敏度, 该方法的线性、灵敏度、准确度和精密度均能满足残留分析的要求。

参考文献

- [1] 赵琳, 张莉, 郭蕾, 等. 无公害韭菜病虫害综合治理技术[J]. 西北园艺(蔬菜), 2009, (6): 41-41.
Zhao L, Zhang L, Guo L, *et al.* Plant diseases and insect pests of pollution-free leek comprehensive treatment technology[J]. Northwest Hortic (Veg), 2009, (6): 41-41.
- [2] GB 2763-2014 食品中农药最大残留限量[S].
GB 2763-2014 Maximum Residue Limits (MRL) in Food [S].
- [3] 臧晓欢, 王春, 高书涛, 等. 分散液相微萃取-气相色谱联用分析水样中菊酯类农药残留[J]. 分析化学, 2008, 36(6): 765-769.
Zhang XH, Wang C, Gao ST, *et al.* Analysis of pyrethroid pesticides in water samples by dispersive liquid-liquid microextraction coupled with gas chromatography[J]. Chin J Anal Chem, 2008, 36(6): 765-769.
- [4] Fernandez-Alvarez M, Llompert M, Lamas JP, *et al.* Simultaneous determination of traces of pyrethroids, organochlorines and other main plant protection agents in agricultural soils by headspace solid-phase microextraction-gas chromatography[J]. J Chromatogr A, 2008, 1188(2): 154-163.
- [5] Li HP, Lin CH, Jen J. Analysis of aqueous pyrethroid residuals by one-step microwave-assisted headspace solid-phase microextraction and gas chromatography with electron capture detection[J]. Talanta, 2009, 79(2): 466-471.
- [6] Niewiadowska A, Kiljanek T, Semeniuk S, *et al.* Determination of pyrethroid residues in meat by gas chromatography with electron capture detection[J]. Bull Vet Inst Pulawy, 2010, 54(4): 595-599.
- [7] 谢艳丽, 梁振益, 章程辉, 等. 气相色谱法检测蔬菜中百菌清·联苯菊酯·氟氯氰菊酯残留量[J]. 安徽农业科学, 2011, 39(5): 2678-2679.
Xie YL, Liang ZY, Zhang CH, *et al.* Determination of the residue of chlorothalonil, biphenyl and cyfluthrin in vegetables with gas chromatography [J]. J Anhui Agric Sci, 2011, 39(5): 2678-2679.
- [8] 李海畅, 张钰萍, 胡德禹, 等. 气相色谱法检测辣椒中 7 种拟除虫菊酯类农药残留[J]. 农药学学报, 2013, 15(1): 117-120.
Li HC, Zhang YP, Hu DY, *et al.* Determination of 7 pyrethroid residues in pepper by gas chromatography [J]. Chin J Pestic Sci, 2013, 15(1): 117-120.
- [9] Lee JM, Park JW, Jang GC, *et al.* Comparative study of pesticide multi-residue extraction in tobacco for gas chromatography-triple quadrupole mass spectrometry[J]. J Chromatogr A, 2008, 1187(1): 25-33.
- [10] González-Rodríguez RM, Rial-Otero R, Cancho-Grande B, *et al.* Determination of 23 pesticide residues in leafy vegetables using gas chromatography-ion trap mass spectrometry and analyte protectants[J]. J Chromatogr A, 2008, 1196-1197: 100-109.
- [11] Shen CY, Cao XW, Shen WJ, *et al.* Determination of 17 pyrethroid residues in troublesome matrices by gas chromatography/mass spectrometry with negative chemical ionization[J]. Talanta, 2011, 84(1): 141-147.
- [12] Tran K, Eide D, Nickols SM, *et al.* Finding of pesticides in fashionable fruit juices by LC-MS/MS and GC-MS/MS[J]. Food Chem, 2012, 134(4): 2398-2405.
- [13] 潘煜辰, 伊雄海, 邓晓军, 等. 亚临界水萃取及气相色谱-串联质谱法检测红茶中多种农药残留[J]. 色谱, 2012, 30(11): 1159-1165.
Pan YC, Yi XH, Deng XJ, *et al.* Determination of multi-pesticides in black tea by subcritical water extraction and gas chromatography-tandem mass spectrometry[J]. Chin J Chromatogr, 2012, 30(11): 1159-1165.
- [14] 陈晓水, 边照阳, 杨飞, 等. 对比 3 种不同的 QuEChERS 前

- 处理方式在气相色谱-串联质谱检测分析烟草中上百种农药残留中的应用[J]. 色谱, 2013, 31(11): 1116-1128.
- Chen XS, Bian ZY, Yang F, *et al.* Comparison of three different QuEChERS sample treatment methods in the analysis of more than one hundred pesticide residues in tobacco by gas chromatography-tandem mass spectrometry[J]. *Chin J Chromatogr*, 2013, 31(11): 1116-1128.
- [15] 陈健航, 叶瑜霏, 程雪梅. 分散固相萃取-气相色谱-质谱联用法检测葱、韭菜和姜中多种农药残留[J]. 质谱学报, 2011, 32(6): 341-349.
- Chen JH, Ye YF, Cheng XM, *et al.* Determination of Pesticide Multi-Residues in Onion, Leek and Ginger by Dispersive Solid-Phase Extraction and GC/MS[J]. *J Chin Mass Spectr Soc*, 2011, 32(6): 341-349.
- [16] 徐宜宏, 蒋施, 赵颖, 等. 韭菜中 34 种农药残留同时检测的气相色谱-串联质谱确证方法[J]. 农药, 2012, 51(11): 825-828.
- Xu YH, Jiang S, Zhao Y, *et al.* Multi residue simultaneous determination study of 34 pesticides in leek by gas chromatography-tandem mass spectrometry[J]. *Agrochem*, 2012, 51(11): 825-828.
- [17] NY/T 761-2008 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[S].
- NY/T 761-2008 Pesticide multiresidue screen methods for determination of organophosphorus pesticides, organochlorine pesticides, pyrethroid pesticides and carbamate pesticides in vegetables and fruits [S].
- [18] 王俊魁, 杨帆, 赵丽华, 等. 沙葱与韭菜中营养成分分析比较[J]. 营养学报, 2013, (1): 86-88.
- Wang JK, Yang F, Zhao LH, *et al.* Analysis and Comparison of Nutritional Components in *Allium mongolicum* Regel and Chinese Chive (*Allium tuberosum* Rottler) [J]. *Acta Nutr Sinica*, 2013, (1): 86-88.

(责任编辑: 赵静)

作者简介



张 群, 博士, 助理研究员, 主要研究方向为农药等有机污染物检测及污染修复方面。

E-mail: zhangqun123@zju.edu.cn

“转基因食品检测与研究”专题征稿

转基因食品是指利用基因工程(转基因)技术在物种基因组中嵌入(非同种)特定的外源基因的食品,包括转基因植物食品、转基因动物食品和转基因微生物食品。转基因作为一种新兴的生物技术手段,它的不成熟和不确定性,使得转基因食品的安全性成为人们关注的焦点。

鉴于此,本刊特别策划了“转基因食品检测与研究”专题,由中国农业科学院北京畜牧兽医研究所李奎教授担任专题主编,围绕转基因食品成分检测、转基因食品特性研究、转基因食品研究现状等或您认为本领域有意义的问题进行论述,计划在 2014 年 10 月份出版。

本刊编辑部和李教授欢迎各位专家为本专题撰写稿件,以期进一步提升该专题的学术质量和影响力。综述、实验报告、研究论文均可,请在 2014 年 9 月 20 日前通过网站或 E-mail 投稿。我们将快速处理并优先发表。

投稿方式:

网站: www.chinafoodj.com

E-mail: tougao@chinafoodj.com

《食品安全质量检测学报》编辑部