

水果中噻虫嗪农药残留 LC/MS/MS 测定

聂 鲲, 周相娟*

(北京市海淀区产品质量监督检验所, 北京 100094)

摘要: **目的** 建立一种简单、快速、灵敏的水果中噻虫嗪农药残留的液相色谱-串联质谱(liquid chromatography-mass spectrometry/mass spectrometry, LC-MS/MS)分析方法。**方法** 称取水果样品 5 g, 加入乙腈 20 mL 在超声波振荡条件下提取, 提取液使用 20 mg 石墨化炭黑(Carb)和 60 mg N-丙基乙二胺(PSA)粉末进行分散固相萃取净化, 经液相色谱质谱联用仪检测, 外标法定量。**结果** 噻虫嗪农药残留的色谱图分离效果好, 方法的检出限为 0.3 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 线性相关系数为 0.9999, 噻虫嗪在苹果、梨、桃中的添加水平为 0.01、0.05、0.10 mg/kg, 回收试验表明该方法平均回收率为 88.9%~100.3% ($n=6$), 相对标准偏差为 1.98%~4.53%。**结论** 该方法简单、快速、灵敏、净化效果好、回收率高, 适合水果中噻虫嗪农药残留的检测和安全监控。

关键词: 水果; 噻虫嗪; 液相色谱-质谱法

Determination of thiamethoxam in fruit by high performance liquid chromatography-mass spectrometry/mass spectrometry

NIE Kun, ZHOU Xiang-Juan*

(Beijing Haidian District Institute of Products Quality Supervision and Inspection, Beijing 100094, China)

ABSTRACT: Objective To establish an easy, rapid and sensitive method to determine thiamethoxam pesticide residues in fruit by utilizing liquid chromatography-mass spectrometry/mass spectrometry (LC-MS/MS). **Methods** Fruit sample 5 g with 20 mL acetonitrile was extracted in the condition of ultrasonic oscillation, then the extract was purified by dispersive solid phase extraction using 20 mg carb and 60 mg PSA as purification sorbent and determined by LC/MS/MS. **Results** A good separation for thiamethoxam was achieved, with a correlation coefficients about 0.9999. The detection limit of the method was 0.3 $\mu\text{g}/\text{kg}$. The average recoveries of thiamethoxam ranged from 88.9% to 100.3% in the range of 0.01 mg/kg, 0.05 mg/kg and 0.10 mg/kg in apple, pear and peach, and the relative standard deviation (RSD) was between 1.98% and 4.53%, respectively. **Conclusion** The method is simple, rapid and sensitive, with a good purifying effect and a high recovery rate, which is suitable for the detection and security monitoring of the thiamethoxam in fruit.

KEY WORDS: fruit; thiamethoxam; liquid chromatography-mass spectrometry/mass spectrometry

基金项目: 国家质量监督检验检疫总局公益性行业科研专项(2012104003)

Fund: Supported by the Special Public Welfare Industry Research of the State Administration of Quality Supervision, Inspection and Quarantine (2012104003)

*通讯作者: 周相娟, 高级工程师(教授), 主要研究方向为食品、化妆品检测技术。E-mail: zhouxjthy@sina.com

*Corresponding author: ZHOU Xiang-Juan, Senior Engineer, Haidian District Institute of Products Quality Supervision and Inspection, NO.17, Fengde East Road, Yongfeng Industrial Base, Haidian District, Beijing 100094, China. E-mail: zhouxjthy@sina.com

1 引言

噻虫嗪是新一代高效、低毒、广谱型烟碱类杀虫剂,具有良好的胃毒、触杀活性。目前,噻虫嗪的检测分析方法主要有高效液相色谱法 (high performance liquid chromatography, HPLC)^[1-6]、液相色谱 - 质谱法 (liquid chromatography mass spectrometry, LC-MS)^[7-10]、气相色谱 - 质谱法 (gas chromatography mass spectrometry, GC-MS)^[11],但这些检测方法存在前处理复杂、回收率偏低或者灵敏度较低等缺点。农药残留的提取方法除了传统的萃取技术,还有加速溶剂萃取,震荡提取,分散固相萃取等新发展的提取技术;净化方法多采用固相萃取柱进行净化。同时以分散固相萃取为基础的 QuEChERS 前处理技术被广泛应用于农药残留检测。本文采用改进的 QuEChERS 前处理技术、固相萃取净化,并优化了液相色谱 - 质谱法 (liquid chromatography-mass spectrometry/mass spectrometry, LC-MS/MS) 检测方法,建立了一种能准确、快速测定水果中噻虫嗪残留的检测方法,能满足水果相关限量标准的要求,为我国监控水果中噻虫嗪农药残留提供技术支持^[12-15]。本文建立的高效、实用、快速、灵敏、针对水果中噻虫嗪的检测方法,对全面加强水果中的噻虫嗪农药污染监测和监管,保证水果产业健康发展具有重要意义。

2 材料与方法

2.1 仪器与试剂

2.1.1 仪器与设备

ACCELA 600 Pump 高效液相色谱仪 (美国 Thermo Fisher 公司); Thermo TSQ Quantum ACCESS MAX 质谱仪 (美国 Thermo Fisher 公司); QZX-C 空气浴振荡器 (哈尔滨市东明医疗仪器厂); AL104 电子分析天平 (0.0001 g) (梅特勒-托利多仪器有限公司)。

2.1.2 试剂和材料

乙腈 (分析纯,北京化工厂); 甲醇为 (色谱纯,德

国 Merck 公司); 噻虫嗪农药标准溶液 (100 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 国家农药质量监督检验中心); 石墨化炭黑 (Carb)、N-丙基乙二胺 (PSA) (Agela Technologies 公司); 氯化钠 (分析纯,北京化工厂); 无水硫酸钠 (分析纯,北京化工厂)。

2.2 实验方法

2.2.1 样品的提取

称取水果样品 5.0 g 于 50 mL 塑料离心管中,加入 20 mL 乙腈, 5 g NaCl, 涡旋振荡 20 min, 以 4000 r/min 离心 15 min, 取上清液于另一只装有 7 g 无水硫酸钠的离心管内, 涡旋震荡 1 min, 以 4000 r/min 离心 15 min, 待净化。

2.2.2 提取液的净化

向 2 mL 离心管内加入 Card 和 PSA 粉末分别为 20 mg 和 60 mg, 取样品上清液 1.6 mL 于离心管内, 3000 r/min 涡旋 2 min, 振荡 0.5 h 后, 以 10000 r/min 离心 5 min, 取上清液过 0.22 μm 微孔滤膜, 待测。

2.2.3 色谱条件

色谱柱: Thermo C₁₈ 色谱柱 (100 mm \times 2.1 mm, 1.9 μm); 柱温: 室温; 流速: 350 $\mu\text{L}/\text{min}$; 进样量: 1 μL ; 梯度洗脱条件如表 1 所示。

表 1 梯度洗脱条件
Table 1 Gradient elution conditions

时间/min	流速/ $(\mu\text{L}/\text{min})$	0.05%甲酸水(%)	乙腈(%)
0	350	90	10
1.5	350	90	10
2.0	350	20	80
2.1	350	20	80
3.5	350	90	10

2.2.4 质谱条件

离子源: 电喷雾离子源 ESI; 扫描方式: 正离子源; 毛细管电压: 350 V; 锥孔电压: 3200 V; 离子源温度: 200 $^{\circ}\text{C}$; 蒸发温度: 200 $^{\circ}\text{C}$; 鞘气: 50 psi; 辅助气: 10 arb; 检测方式: 多重反应监测 (SRM), 如表 2 所示。

表 2 多重反应监测

Table 2 Multiple reaction monitoring

名称	保留时间(min)	定性离子对(m/z)	定量离子对(m/z)	滞留时间(s)	锥孔电压(V)	碰撞能量(eV)
噻虫嗪	2.12	292.01/181.07		0.25	3200	21
			292.01/211.05	0.25	3200	11

2.2.5 色谱分析

采用自动进样器进样,将噻虫嗪农药标准品和净化过的样品注入 LC/MS/MS 中,在相同色谱条件下,以保留时间定性,以样品峰面积和标准品进行比较定量。噻虫嗪农药标准品色谱图见图 1。

3 结果与讨论

3.1 提取条件的选择

根据噻虫嗪农药的极性和相关文献的报道,用的较多的提取溶剂有乙酸乙酯、丙酮、乙腈等或它们的混合溶剂。由于噻虫嗪极性较强且水果中含水量较多,故乙酸乙酯提取效果并不理想,平均添加回收率为 30.4%~45.2%;丙酮对于极性较强的农药提取效果较好,但平均回收率为 81.2%,不易于用水分层,且色素含量较高。乙腈具有溶解性大、穿透力强,净化简单的特点,可以有效提取农药且干扰物少,当向提取液中加入氯化钠时,乙腈与水有明显分层,提取效果良好,且杂质干扰较少,其平均回收率在 94.5%,因此本研究选择乙腈作为提取溶剂^[4,5]。原始的 QuEChERS 法去除杂质快速、简单、高效、安全,特别在操作步骤少、对于复杂样品净化上表现突出,但加入无水硫酸镁后极易结块,除水效果不佳,导致样品平行性较差,因此本文改进为加入 NaCl 盐析、离心分层取出上清液后,再加入无水硫酸钠,使其干燥效果提高。

3.2 柱净化条件的选择

水果基质复杂,对于 LC/MS/MS 来说,上述提取液不能满足检测要求,需进一步净化。通过比较中性氧化铝、Florisil 固相萃取柱、Carb/NH₂ 固相萃取柱进行净化和回收率试验,由于样品在浓缩过程中经常爆沸,部分噻虫嗪农药损失,使得回收率在 70.1%~82.5%;原始的 QuEChERS 法仅使用 PSA 净化,虽然其去除有机酸效果较好,但去除色素、甾醇和维生素效果一般,由于样品含有部分色素,对 LC/MS/MS 产生较严重的基质效应,而 Carb 对色素杂质等效果较好,故本文用 Carb+PSA 粉末进行样品净化。净化吸附剂的用量是影响净化效果和回收率的决定因素,使用量小时,净化效果不明显,有杂质干扰,使用量大时净化效果明显但影响回收率。往同一浓度的噻虫嗪标准品溶液中单用 PSA 和分别加入相同量的 PSA 与不同量 Carb,经涡旋震荡 1 min,静置 1 min,取上清液过 0.22 μm 有机滤膜,LC-MS/MS 测定,每组 6 个平行样,PSA 分别加入 50、60、70、80 mg,回收率为 92.3%~97.4%,故 PSA 对噻虫嗪吸附没有影响,选择 60 mg PSA。当加入 60 mg PSA 以及 20、30、40、50 mg Carb 时,回收率分别为 84.5%、94.7%、70.2%、67.6%。Carb 对色素等杂质净化效果好,但对噻虫嗪有较强的吸附作用,PSA 对噻虫嗪吸附影响较小。通过实验数据确定了净化水果样品的乙腈提取液,PSA 用量为 60 mg,Carb 用量为 20 mg。

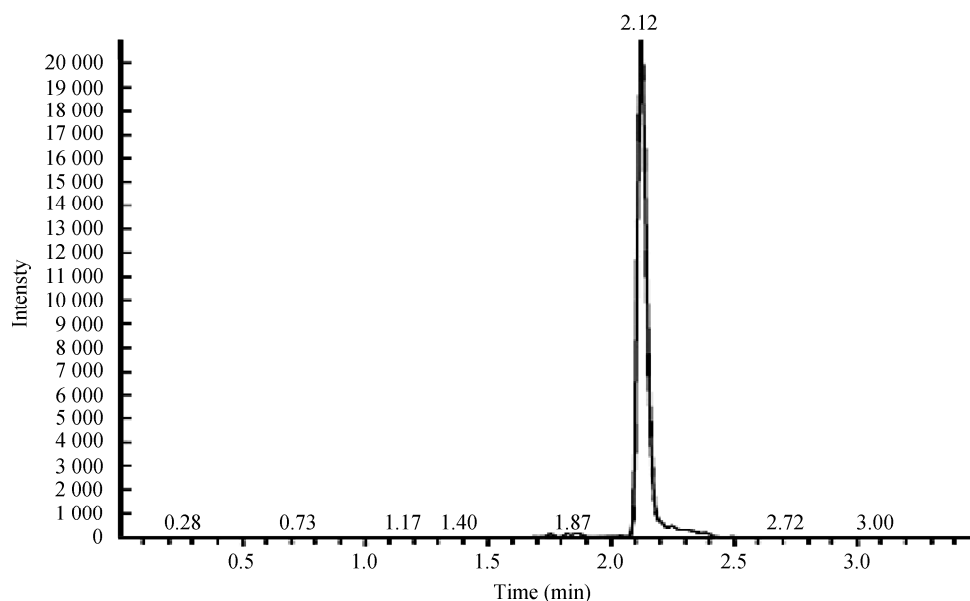


图 1 噻虫嗪农药标准品色谱图

Fig. 1 Chromatogram of thiamethoxam pesticide standards

3.3 线性与检出限

将 100.0 $\mu\text{g/mL}$ 的噻虫嗪标准溶液用乙腈:水=2:8(v:v)稀释配得 50.0、10.0、5.0、1.0、0.5 ng/mL 系列标准溶液, 在上述液相条件下进行测定, 以噻虫嗪标准溶液浓度与面积作标准曲线。标样线性方程为: $Y=86778X+36892$, 相关系数为: $R=0.9999$; 其中 Y 为噻虫嗪峰面积, X 为标准溶液浓度, 检出限为 0.3 $\mu\text{g/kg}$ 。

3.4 回收率和精密度

选用苹果、梨、桃 3 种水果样品若干份(已测得此样的噻虫嗪农药残留本底值为空白), 分别加入一定量的标准品溶液, 3 个添加水平分别为 0.01、0.05 和 0.10 mg/kg , 每个添加水平做 6 个平行, 充分混匀后按“2.2”项操作进行测定, 平均回收率及相对标准偏差(RSD)如表 3 所示。样品空白及加标样品谱图见图 2、图 3。

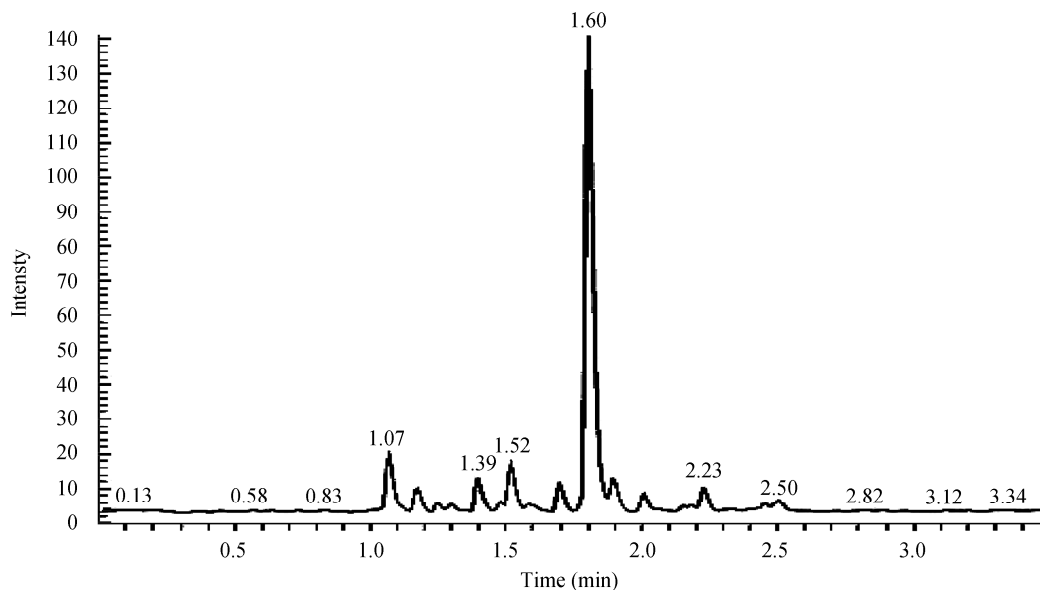


图 2 空白样品色谱图

Fig. 2 Chromatogram of blank samples

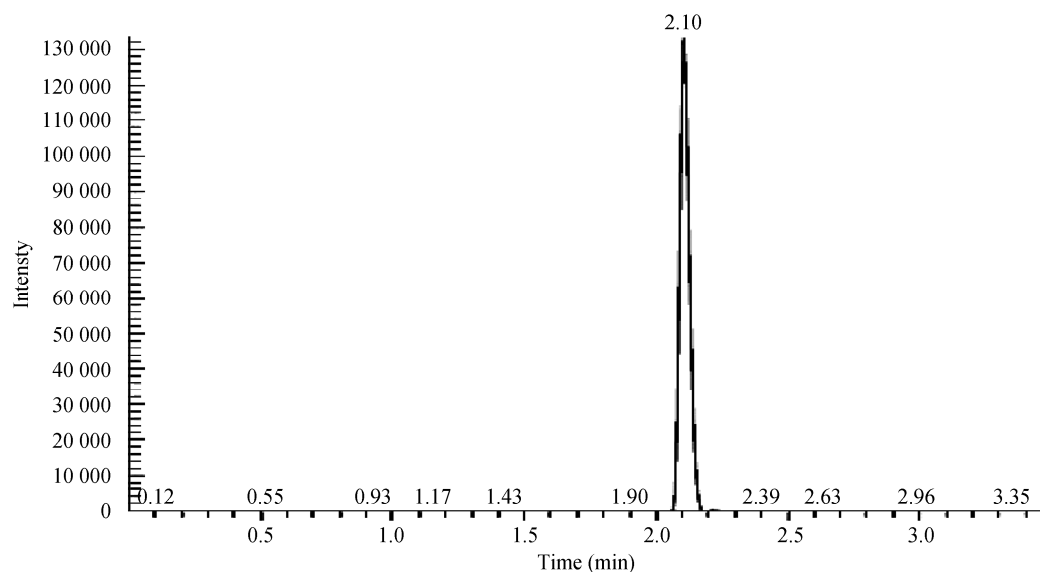


图 3 样品加标色谱图

Fig. 3 Chromatogram of spiked samples

表3 噻虫嗪农药的平均回收率及相对标准偏差(RSD)
Table 3 Average spiked recoveries and relative standard deviations (RSD) of thiamethoxam

噻虫嗪	添加 0.01 mg/kg		添加 0.05 mg/kg		添加 0.1 mg/kg	
	回收率%	RSD%	回收率%	回收率%	RSD%	回收率%
苹果	88.9	2.31	90.2	2.12	91.3	1.98
梨	96.6	3.12	93.6	2.88	94.3	3.58
桃	99.7	2.75	97.6	4.51	100.3	4.53

4 结论

本研究并建立了一种快速检测水果中噻虫嗪农药残留的 LC/MS/MS 的检测技术, 该方法回收率在 88.9%~100.3% 之间, 相对标准偏差在 1.98%~4.53% 之间, 检出限为 0.3 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 具有灵敏度高、分离效果好、重复性强等特点, 适用于短时间内大批量测定水果中噻虫嗪。

参考文献

- [1] Wang P, Yang X, Wang J, *et al.* Multi-residue method for determination of seven neonicotinoid insecticides in grains using dispersive solid-phase extraction and dispersive liquid-liquid micro-extraction by high performance liquid chromatography [J]. *Food Chem*, 2012, 134(3): 1691–1698.
- [2] Tapparo A, Giorio C, Marzaro M, *et al.* Rapid analysis of neonicotinoid insecticides in guttation drops of corn seedlings obtained from coated seeds [J]. *J Environ Monit*, 2011, 13: 1564–1568.
- [3] 汤富彬, 陈宗懋, 罗逢健, 等. HPLC 法测定黄瓜和土壤中噻虫嗪的残留量[J]. *农药*, 2007, (5): 335–337.
Tang FB, Chen ZM, Luo FJ, *et al.* Determination of thiamethoxam residue in cucumber and soil by HPLC [J]. *Agrochemicals*, 2007, (5): 335–337.
- [4] 李明立, 宋姝娥, 嵇俭, 等. 噻虫嗪在番茄上的残留消解动态 [J]. *农药*, 2007, (7): 477–478.
Li ML, Song SE, Ji J, *et al.* Dynamics and terminal residue of thiamethoxam on tomato [J]. *Agrochemicals*, 2007, (7): 477–478.
- [5] 金党琴, 丁邦东, 孔勇. 快速溶剂萃取高效液相色谱法测定蔬菜中噻虫嗪残留量[J]. *分析仪器*, 2014, (2): 69–72.
Jin DQ, Ding BD, Kong Y. Determination of thiamethoxam in vegetables by accelerated solvent extraction-HPLC [J]. *Anal Instrum*, 2014, (2): 69–72.
- [6] 孙伟, 冯敏. 固相萃取-高效液相色谱法测定环境水体中的噻虫嗪[J]. *安徽化工*, 2012, (4): 61–62.
Sun W, Feng M, Determination of thiamethoxam in ambient water by HPLC [J]. *Anhui Chem Ind*, 2012, (4): 61–62.
- [7] 刘飞, 陈永焯, 游飞明, 等. UPLC-MS/MS 同时测定茶叶中 7 种烟碱类杀虫剂[J]. *食品研究与开发*, 2012, (4): 144–146.
Liu F, Chen YX, You FM, *et al.* Simultaneous determination of seven nicotinic insecticides in tea by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Food Res Devel*, 2012, (4): 144–146.
- [8] IWafune T, Ogino T, Watanabe E. Water-based extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry analysis of neonicotinoid insecticides and their metabolites in green pepper-tomato samples [J]. *J Agric Food Chem*, 2014, 62(13): 2790–2796.
- [9] Jovanov P, Guzsvany V, Franko M, *et al.* Multiresidue method for determination of selected neonicotinoid insecticides in honey using optimized dispersive liquid-liquid microextraction combined with liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Talanta*, 2013, 111: 125–133.
- [10] 罗梅梅, 铁柏清, 贺敏, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法检测韭菜中噻虫嗪及其代谢物噻虫胺[J]. *农药*, 2014, (7): 394–396.
Luo MM, Tie BQ, He M, *et al.* Simultaneous determination of thiamethoxam and clothianidin in leek by UPLC-MS-MS [J]. *Agrochemicals*, 2014, (7): 394–396.
- [11] 许秀莹, 施海燕, 王鸣华. 气相色谱-质谱联用测定大米中 6 种烟碱类农药残留[J]. *质谱学报*, 2012 (3): 99–103.
Xu XY, Shi HY, Wang MH. Determination of six neonicotinoid pesticides residue in rice by GC-MS [J]. *J Chin Mass Spect Soc*, 2012, (3): 99–103.
- [12] NY/T761-2004 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检测方法 [S].
NY/T761-2004 Pesticide multiresidue screen methods for determination of organophosphorus pesticides, organochlorine pesticides, pyrethroid pesticides and carbamate pesticides in vegetables and fruits [S].
- [13] 杨振华, 魏朝俊, 赵建庄, 等. SPE-GC 法同时检测草莓中 7 种常用农药的残留[J]. *农业环境科学学报*, 2012, 31(11):

2304–2308.

Yang ZH, Wei ZJ, Zhao JZ. Simultaneous determination of the residue of seven commonly-used pesticides in strawberry with solidphase extraction and gas chromatography [J]. *Jagro-Environ Sci*, 2012, 31(11): 2304–2308.

- [14] 邵金良, 汪禄祥, 梅文泉, 等. SPE-HPLC 紫外双波长测定水果中 10 种农药残留[J]. *现代食品科技*, 2013, 29(10): 2547–2553.

Shao JL, Wang LX, Mei WQ, *et al.* Determination of 10 pesticide residues in fruits by HPLC with SPE and UV double wavelength [J]. *Mod Food Sci Technol*, 2013, 29(10): 2547–2553.

- [15] 乔雄梧. 国外食品中农业残留监测概况[J]. *农药科学与管理*, 2000, 21(2): 11–15.

Qiao XW. Oversea pesticide resticide residue monitoring in food

[J]. *Pestic Sci Admin*, 2000, 21(2): 11–15.

(责任编辑: 杨翠娜)

作者简介



聂 鲲, 工程师, 主要研究方向为食品质量安全检测。

E-mail: niekun0557031@163.com



周相娟, 高级工程师(教授), 主要研究方向为食品、化妆品检测技术。

E-mail: zhouxjthy@sina.com