

超高效液相色谱-串联质谱法测定干辣椒中 2种新型杀虫剂残留量

刘 炜¹, 刘 行^{2*}, 杨晓凤¹, 魏 超¹, 尹 全¹, 张义蓉¹, 罗晓梅¹

(1. 四川省农业科学院分析测试中心, 成都 610066;

2. 四川省农业科学院经济作物育种栽培研究所, 成都 610300)

摘 要: **目的** 建立超高效液相色谱-串联质谱法(ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, UPLC-MS/MS)测定干辣椒中氰氟虫腙和氯虫苯甲酰胺残留量的分析方法。**方法** 干辣椒样品经乙腈匀浆提取, 氨基固相萃取小柱净化, 甲醇/水(50:50, *V:V*)定容, 以反相 C₁₈ 色谱柱(100 mm×2.1 mm, 1.7 μm)分离, 0.1%甲酸-水和甲醇作为流动相进行梯度洗脱, 多反应监测模式下进行超高效液相色谱-串联质谱测定、基质匹配标准溶液外标法定量。**结果** 2种新型杀虫剂在 5~500 μg/L 范围内线性关系良好, 相关系数均大于 0.999, 定量限为 0.008~0.01 mg/kg; 在高、中、低 3 个加标水平下的回收率为 80.4%~94.9%, 相对标准偏差在 0.9%~8.7%之间。**结论** 方法简单、快速、灵敏高、准确可靠, 可操作性强, 适合测定干辣椒中氰氟虫腙和氯虫苯甲酰胺残留量。

关键词: 干辣椒; 氰氟虫腙; 氯虫苯甲酰胺; 超高效液相色谱-串联质谱法

Determination of residual amounts of 2 kinds of new insecticides in dried chilli by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry

LIU Wei¹, LIU Xing^{2*}, YANG Xiao-Feng¹, WEI Chao¹, YIN Quan¹,
ZHANG Yi-Rong¹, LUO Xiao-Mei¹

(1. Analysis and Testing Center of Sichuan Academy of Agricultural Sciences, Chengdu 610066, China;

2. Economic Crops Research Institute, Sichuan Academy of Agricultural Sciences, Chengdu 610300, China)

ABSTRACT: Objective To establish a method for determination of metaflumizone and chlorantraniliprole in dried chilli by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS). **Methods** The samples were extracted with acetonitrile, and purified by amino solid phase extraction column, then methanol and water (50:50, *V:V*) were used for constant volume. They were separated on reverse C₁₈ column with methanol and 0.1% formic acid (*V:V*) as the mobile phases in gradient program. The analytes were determined by UPLC-MS/MS under multiple reaction monitoring mode, and quantified by matrix matched external standard method. **Results** Good linearities were obtained for two new insecticides in the concentration range of 5~500 μg/L with correlation coefficients more than 0.999, and the limits of quantification were 0.008-0.01 mg/kg. The recoveries of the two insecticides were 80.4%-94.9% and the relative standard deviations were 0.9%-8.7% spiked at low, intermediate and

*通讯作者: 刘行, 主要研究方向为食品质量与安全. E-mail: 18380382015@163.com

*Corresponding author: LIU Xing, Economic Crops Research Institute, Sichuan Academy of Agricultural Sciences, Chengdu, 610300, China. E-mail: 18380382015@163.com

high concentration levels. **Conclusion** The method is simple, sensitive and accurate, which is suitable for determination of two new insecticides in dried chilli.

KEY WORDS: dried chilli; metaflumizone; chlorantraniliprole; ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry

1 引言

我国是世界上主要的辣椒生产、消费和出口国, 出口量连续保持世界第一位, 辣椒产业的发展对世界辣椒产业的发展具有重要影响。干辣椒是由新鲜红辣椒经过脱水干制而成的辣椒制品, 含有丰富的维生素 C 等营养成分^[1]。辣椒在生长旺盛时期和储藏过程中经常会出现病虫害(鳞翅目害虫等), 氰氟虫腙和氯虫苯甲酰胺对这类害虫防治效果较好。氰氟虫腙和氯虫苯甲酰胺是新型高效的杀虫剂, 可有效防治鳞翅目害虫(甜菜夜蛾、小菜蛾)和部分其他害虫^[2-6], 但由于不少农户忽视农药的正确、合理使用, 导致氰氟虫腙和氯虫苯甲酰胺残留污染问题发生。

为有效监控氰氟虫腙和氯虫苯甲酰胺在辣椒及其制品等生产中的合理使用, 开展辣椒中氰氟虫腙和氯虫苯甲酰胺农药残留分析研究非常必要。目前, 主要采用高效液相色谱法来测定分析水稻、土壤、大米中氯虫苯甲酰胺的残留^[7-9], 高效液相色谱-串联质谱法来测定分析水、土壤、果蔬种氰氟虫腙和氯虫苯甲酰胺的残留^[10-16]。有关干辣椒中氰氟虫腙和氯虫苯甲酰胺残留的检测方法较少, 也未制定氰氟虫腙和氯虫苯甲酰胺在干辣椒中的最高残留限量标准。

本研究针对干辣椒样品, 对前处理方法、液相色谱条件及质谱条件进行优化, 建立了超高效液相色谱-串联质谱法方法测定干辣椒样品中氰氟虫腙和氯虫苯甲酰胺残留量, 方法简单、快速、灵敏高、准确可靠, 可操作性强。为相关监管部门的检测工作提供参考。

2 材料与方法

2.1 仪器、试剂与材料

Waters XEVO TQ 高效液相色谱-串联质谱仪、CAPCELL Pak C₁₈ 柱(100 mm×2.1 mm, 1.7 μm)(日本资生堂公司); T18 变速匀浆机(德国 IKA 公司); RV10 旋转蒸发浓缩仪(德国 IKA 公司); TG-16 台式高速离心机(四川蜀科仪器有限公司); NH₂ 固相萃取小柱(美国安捷伦公司); 0.2 μm 有机滤膜(美国安捷伦公司)。

氰氟虫腙和氯虫苯甲酰胺标准品(纯度≥98%, 美国 Dr.Ehrenstorfer 公司); 甲醇(质谱纯, 美国 Fisher 公司); 乙腈(色谱纯, 美国 Fisher 公司)。

辣椒样品采自新疆、山东、贵州市场。

2.2 农药标准溶液的配制

氰氟虫腙和氯虫苯甲酰胺标准储备液: 分别准确称取 5.0 mg 各农药标准品, 乙腈定容至 5 mL, 得到单一农药标准储备液(1000 μg/mL), 于-18 ℃避光密封储存。分别准确吸取单一农药标准储备液 1 mL, 甲醇稀释至 10 mL, 得到 100 μg/mL 的工作液, 于-4 ℃储存。

氰氟虫腙和氯虫苯甲酰胺标准工作液: 分别准确量取 100 μg/mL 的单一农药标准液各 5 mL, 甲醇定容至 50 mL, 得到 10 μg/mL 的混合农药标准储备液, 于-18 ℃避光密封储存。

氰氟虫腙和氯虫苯甲酰胺标准系列工作液: 用干辣椒空白提取液配制 0.005、0.01、0.05、0.1、0.2、0.3、0.5 μg/mL 的系列浓度基质混合标准液。

2.3 色谱条件

色谱柱: C₁₈ 柱(100 mm×2.1 mm, 1.7 μm); 流速为 0.3 mL/min; 柱温: 40 ℃; 进样室温度: 15 ℃; 进样量: 10 μL; 流动相: A: 0.1%甲酸水溶液; B: 甲醇, 梯度洗脱: 0~0.4 min, 70%A; 0.4~0.8 min, 70%A~50%A; 0.8~1.0 min, 50%A~20%A; 1.0~3.0 min, 20%A~3%A; 3.0~3.5 min, 3%A~70%A; 3.6~5.0 min, 70%A。

2.4 质谱条件

电喷雾离子源: ESI; 检测方式: 多反应检测(multiple reaction monitoring, MRM); 扫描模式: 正离子扫描。质谱条件: 毛细管电压: 3 kV; 锥孔气(N₂)流速: 20 L/h; ; 脱溶剂气(N₂); 流速: 650 L/h; 脱溶剂温度: 400 ℃; 离子源温度: 150 ℃, 详见表 1。

表 1 MRM 监测模式下 2 种新型杀虫剂的质谱采集参数
Table 1 Mass spectrum acquisition parameters of two new insecticides in MRM mode

化合物	保留时间/min	母离子/(m/z)	子离子/(m/z)	锥孔电压/V	碰撞能量/V
氰氟虫腙	2.72	507.2	178.1*	36	38
			287.1	36	24
氯虫苯甲酰胺	2.05	484.0	286.0*	16	30
			453.0	16	14

注: *为定量离子

2.5 样品前处理

2.5.1 样品提取

称取 5.0 g 试样于 100.0 mL 离心管中, 加入 5 mL 超纯水, 使辣椒充分吸收水分, 加入 50.0 mL 乙腈, 15000 r/min 匀浆提取 1 min, 加入 3~5 g NaCl, 再匀浆提取 1 min, 3000 r/min 离心 5 min, 使乙腈和水相分层。

2.5.2 样品净化

准确移取 10 mL 上清液, 40 ℃ 水浴中旋转浓缩至 1 mL, 移入活化好的 NH₂ 固相萃取小柱, 用 5 mL 乙腈/甲苯溶液(75:25, V/V)溶解洗涤残渣, 将洗涤液移入柱中。在柱上加上 50 mL 贮液器, 用 15 mL 乙腈/甲苯溶液(75:25, V/V)洗涤净化柱, 收集所有流出物于鸡心瓶中, 并在 40 ℃ 水浴中旋转浓缩至近干, 加入 2 mL 甲醇/水溶液(50:50, V/V)定容, 混匀, 经 0.2 μm 滤膜过滤后供超高效液相色谱-串联质谱测定。

3 结果与讨论

3.1 色谱条件优化

用甲醇/水作为流动相, 氰氟虫腙和氯虫苯甲酰胺的峰型出现拖尾现象, 在流动相中加入适量的甲酸, 可以改善峰形和提高氰氟虫腙的电离率, 采用甲醇和不同含量(0.05%~0.20%)的甲酸水溶液作为流动相进行试验, 最终选择 0.1%甲酸水溶液/甲醇梯度洗脱为液相色谱条件, 优化条件下, 空白干辣椒样品加标的总离子流图见图 1。

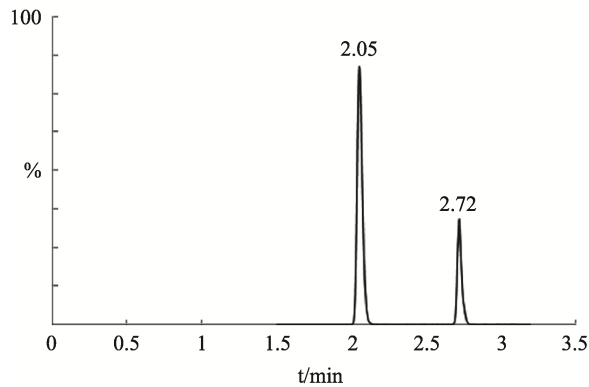


图 1 2 种新型杀虫剂残留标准添加(1.00 mg/kg)样品 MRM 色谱图

Fig. 1 MRM chromatogram of two new insecticides (1.00 mg/kg)

3.2 质谱谱条件优化

以甲醇/水(50:50, V/V)为流动相, 对用 1.0 μg/mL 的农药氰氟虫腙和氯虫苯甲酰胺混合标准溶液在电喷雾正、负离子模式下全扫描, 对质谱条件进行优化, 在电喷雾正离子模式下, 分别得到最高的分子离子峰 507.2 *m/z* 和 484.0 *m/z*, 确定为母离子。对母离子 507.2 *m/z* 和 484.0 *m/z*,

进行二级质谱扫描, 得到碎片离子与母离子组成检测离子对, 以两个响应信号强且稳定的碎片离子离子作为辅助定性离子, 其中响应信号较强的碎片离子作为定量离子, 优化得到最佳碎裂电压和碰撞能量。

3.3 线性关系、检出限与定量限

用干辣椒空白基质配制一系列不同浓度的标准溶液, 在仪器优化条件下进行处理, 以进样质量浓度为 *X* 轴、峰面积为 *Y* 轴得到标准工作曲线。2 种新型杀虫剂的线性方程、相关系数及定量限(limit of quantitation, LOQs)见表 2。

表 2 线性方程、相关系数及定量限
Table 2 Linear equations, correlation coefficients and LOQs of the two new insecticides

化合物	回归方程	相关系数 /(<i>r</i> ²)	线性范围 /(μg/L)	定量限 /(mg/kg)
氰氟虫腙	<i>Y</i> =569.38 <i>X</i> +1190.2	0.9997	5~500	0.01
氯虫苯甲酰胺	<i>Y</i> =1433.5 <i>X</i> +1572.2	0.9999	5~500	0.008

3.4 方法的精密度与回收率

在上述实验条件下, 用空白辣椒样品分别添加氰氟虫腙 0.01、1.0 和 6.0 mg/kg 3 个浓度水平的混合标准溶液、氯虫苯甲酰胺 0.01、1.0 和 5.0 mg/kg 3 个浓度水平的混合标准溶液进行添加回收试验, 对每个浓度平行测定 6 次, 方法回收率和相对标准偏差(relative standard deviation, RSD)结果见表 3。

表 3 2 种农药残留回收率和和精密度(*n*=6)
Table 3 Spiked recoveries and RSDs of two new insecticides (*n*=6)

化合物	添加浓度/(mg/kg)	平均回收率/%	RSD/%
氰氟虫腙	0.01	92.3	4.6
	1.00	88.5	8.7
	6.00	94.9	1.4
氯虫苯甲酰胺	0.01	80.4	1.1
	1.00	92.4	1.3
	5.00	92.5	0.9

3.5 实际样品检测

采用本方法对采自新疆、山东、贵州等地的 60 个干辣椒样品进行检测, 氰氟虫腙均未检出, 8 个样品中氯虫苯甲酰胺有检出, 含量为 0.0020~0.011 mg/kg, 结果见表 4。

4 结 论

建立了氨基固相萃取小柱净化, 超高效液相色谱-串联质谱测定干辣椒中氰氟虫腙和氯虫苯甲酰胺残留量的

表 4 氯虫苯甲酰胺在干辣椒的检出结果
Table 4 Contents of chlorantraniliprole in dried chilli

8 个干辣椒样品								
氯虫苯甲酰胺/(mg/kg)	0.0030	0.010	0.0026	0.0030	0.0026	0.0020	0.0050	0.011

方法。方法的回收率为 80.4%~94.9%，相对标准偏差为 0.9%~8.7%，定量限为 0.008~0.01 mg/kg，方法简单、快速、灵敏高、准确可靠，可操作性强，适合测定干辣椒中氟氯虫脲和氯虫苯甲酰胺残留量。

参考文献

[1] 江海坤, 张其安, 方凌, 等. 安徽省干辣椒科研生产现状和发展对策[J]. 安徽农业科学, 2011, 39(36): 22291-22290, 22448.
Jiang HK, Zhang QY, Fang L, *et al.* The research, production status and development countermeasures of pepper in anhui province [J]. Anhui Agric Sci, 2011, 39(36): 22291-22290, 22448.

[2] 郭敏, 吴文铸, 宋宁慧, 等. 除草剂绿草定-2-丁氧基乙酯的土壤降解特性[J]. 环境化学, 2013, 32(4): 584-588.
Guo M, Wu WT, Song LH, *et al.* Soil degradation characteristics of herbicide green grass fixed -2- butyl oxygen ethyl ester [J]. Environ Chem, 2013, 32(4): 584-588.

[3] 赵贵民, 谢春艳, 张敏恒. 螺螨酯合成方法述评[J]. 农药, 2013, 52(7): 540-541.
Zhao GM, Xie CY, Zhnag MH. A review of synthetic methods of spirodiclofen [J]. Agro Chem, 2013, 52(7): 540-541.

[4] Lahm GP, Selby TP, Freudenberger JH, *et al.* Insecticidal anthranilic diamides: A new class of potent ryanodine receptor activators [J]. Bioorg Med Chem Lett, 2005, 15(22): 4898-4906.

[5] Lahm GP, Stevenson TM, Selby TP, *et al.* A new insecticidal anthranilic diamide that acts as a potent and selective ryanodine receptor activator [J]. Bioorg Med Chem Lett, 2007, 17(22): 6274-6279.

[6] Liu YM, Zhang H, He FM, *et al.* Combined toxicity of chlorantraniliprole, lambda-cyhalothrin, and imidacloprid to the silkworm *Bombyx mori* (Lepidoptera: Bombycidae) [J]. Environ Sci Poll Res, 2018, 25(23): 22598-22605.

[7] 杨森, 吴勇, 谢龙安, 等. 高效液相色谱法测定大米中氯虫苯甲酰胺[J]. 南方农业, 2014, 8(12): 113-114.
Yang S, Wu Y, Xie LA, *et al.* Determination of chlorantraniliprole in rice by high performance liquid chromatography [J]. South China Agric, 2014, 8(12): 113-114.

[8] 刘秦燕, 李伟, 阳仲斌, 等. 一种 20% 氯虫苯甲酰胺悬浮剂的液相色谱检测方法研究[J]. 中国农学通报, 2015, 31(31): 213-216.
Liu QY, Li W, Yang ZB, *et al.* Research on chromatography detection method of 20% chlorantraniliprole suspension liquid [J]. Chin Agric Sci Bull, 2015, 31(31): 213-216.

[9] 贺敏, 朱晓丹, 贾春虹, 等. 玉米中氯虫苯甲酰胺残留的超高效液相色谱分析方法[J]. 农药学报, 2013, 15(5): 597-600.
He M, Zhu XD, Jia CH, *et al.* Residue analytical method of chlorantraniliprole in corn by ultra performance liquid chromatography [J]. Chin J Pest Sci, 2013, 15(5): 597-600.

[10] Telo GM, Senseman SA, Marchesae E, *et al.* Residues of thiamethoxam and chlorantraniliprole in rice grain [J]. J Agric Food Chem, 2015, 63(8): 2119-2126.

[11] 许振岚, 陈丽萍, 徐明飞, 等. 氯虫苯甲酰胺和吡唑醚菌酯在铁皮石斛中的残留及消解动态[J]. 农药学报, 2018, 20(2): 223-231.
Xu XL, Chen LP, Xu MF, *et al.* Residues and dissipation dynamics of chlorantraniliprole and pyraclostrobin in *Dendrobium officinale* [J]. Chin J Pest Sci, 2018, 20(2): 223-231.

[12] 王运儒, 秦玉燕, 杨秀娟, 等. 40% 氯虫·噻虫嗪水分散粒剂在辣椒及土壤中的残留消解动态[J]. 江苏农业学报, 2018, 34(1): 207-212.
Wang YR, Qin YY, Yang XJ, *et al.* Dissipation of chlorantraniliprole and thiamethoxam in pepper and soil after field application in the form of 40% water dispersible granules [J]. Jiangsu J Agric Sci, 2018, 34(1): 207-212.

[13] 韩丙军, 黄海珠, 何燕, 等. UPLC-MS/MS 测定动物源食品中 4 种农药残留[J]. 食品研究与开发, 2017, 38(20): 130-134.
Han BJ, Huang HZ, He Y, *et al.* Determination of four pesticides residues in food products of animal origin using ultra-high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. Food Res Dev, 2017, 38(20): 130-134.

[14] 覃国新, 劳水兵, 莫仁甫, 等. 超高压液相色谱串联质谱法测定小油菜中 3 种农药残留[J]. 分析试验室, 2018, 37(4): 378-382.
Qin GX, Lao SB, Mo RF, *et al.* Determination of abamectin, chlorantraniliprole and difenoconazole residues in rape by ultra performance liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. Chin J Anal Lab, 2018, 37(4): 378-382.

[15] 黄兰淇, 张正炜, 陈秀, 等. HPLC-MS/MS 技术检测稻田土、水中阿维菌素等 5 种农药[J]. 现代农药, 2018, 17(1): 43-45, 49.
Huang LQ, Zhang ZW, Chen X, *et al.* Determination of five pesticides Including abamectin in paddy soil and water by HPLC-MS/MS [J]. Mod Agro, 2018, 17(1): 43-45, 49.

[16] 彭茂民, 刘丽, 王小飞, 等. UPLC-MS-MS 法快速测定大白菜和土壤中氟氯虫脲残留[J]. 湖北农业科学, 2016, 55(23): 6231-6234.
Peng MM, Liu L, Wang XF, *et al.* Rapid determination of metaflumizone residues in chinese cabbage and soil by ultra high performance liquid chromatography tandem triple quadruple mass spectrometry [J]. Hubei Agric Sci, 2016, 55(23): 6231-6234.

(责任编辑: 韩晓红)

作者简介



刘 伟, 硕士, 助理研究员, 主要研究方向为食品质量安全。
E-mail: 735265755@qq.com



刘 行, 主要研究方向为食品质量与安全。
E-mail: 18380382015@163.com