

高效液相色谱-串联质谱法快速测定果蔬中特丁硫磷、特丁硫磷砒和特丁硫磷亚砒的残留量

刘 佳, 蔡 涛*, 庞宏宇, 罗华兰, 王 震, 李 俊, 赖 飞, 杜 楠, 丁 静,
王晓鹭, 周雪丽, 祝 愿

(贵州省农产品质量安全监督检验测试中心, 贵阳 550001)

摘 要: **目的** 建立高效液相色谱-串联质谱法快速测定蔬菜、水果中特丁硫磷、特丁硫磷砒和特丁硫磷亚砒农药残留量的分析方法。**方法** 样品经乙腈直接匀浆提取过滤, 滤液中加入氯化钠分层后吸取上层清液过0.22 μm 滤膜, 经 Phenomenex C_{18} (150 mm $\times$ 2.0 mm, 5 μm)色谱柱, 以 0.1%乙酸铵甲醇溶液和 0.1%甲酸乙酸铵水溶液为流动相, 梯度洗脱, 流速为 0.5 mL/min, 柱温为 35 $^{\circ}\text{C}$, 多重态反应监测模式监测。**结果** 在 14.4~288 $\mu\text{g/L}$ 的浓度范围内, 各组分线性关系良好($r>0.999$), 检出限为 0.12~0.63 $\mu\text{g/kg}$, 加标回收率为 84.8%~103.0%, 相对标准偏差为 0.473%~15.622%。**结论** 该方法分析速度快、灵敏度高, 适合于蔬菜、水果中特丁硫磷类残留物的检测。

关键词: 特丁硫磷; 特丁硫磷砒; 特丁硫磷亚砒; 高效液相色谱-串联质谱法; 蔬菜水果

Rapid determination of terbufos, terbufos-sulfone and terbufos-sulfoxide residues in vegetables and fruits by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry

LIU Jia, CAI Tao*, PANG Hong-Yu, LUO Hua-Lan, WANG Zhen, LI Jun, LAI Fei, DU Nan,
DING Jing, WANG Xiao-Lu, ZHOU Xue-Li, ZHU Yuan

(Guizhou Agricultural Products Quality and Safety Supervision and Testing Center, Guiyang 550001, China)

ABSTRACT: Objective To establish a method for rapid determination of terbufos, terbufos-sulfone and terbufos-sulfoxide residues in vegetables and fruits by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **Methods** The samples were extracted and filtered with acetonitrile homogenate, sodium chloride was added to the filtrate and the filtrate was filtered by 0.22 microns filter membrane after the supernatant was absorbed. The samples were separated with a Phenomenex C_{18} (150 mm $\times$ 2.0 mm, 5 μm)column using 0.1% ammonium acetate in methanol and 0.1% ammonium formate acetate as mobile phase at the flow of 0.5 mL/min by gradient elute, and the column temperature was maintained at 35 $^{\circ}\text{C}$. The detection was monitored by multiple reaction monitoring. **Results** At the concentration range of 14.4-288 $\mu\text{g/L}$, the linear relationship of the components was good($r>0.999$), the limits of detection were 0.12-0.63 $\mu\text{g/kg}$, the standard recoveries were 84.8%-103.0%, and the relative standard deviations

基金项目: 贵州省重大科技专项项目(黔科合重大专项字[2013]6024 号)

Fund: Supported by the Major Science and Technology Project of Guizhou Province([2013]6024)

*通讯作者: 蔡滔, 高级农艺师, 主要研究方向为农产品安全监管工作。E-mail: ct88win@163.com

*Corresponding author: CAI Tao, Senior Agronomist, Guizhou Provincial Supervision and Testing Center for Agricultural Product Quality, Ministry of Agriculture (Guiyang), Guiyang 550004, China. E-mail: ct88win@163.com

were 0.473%-15.622%. **Conclusion** This method has the advantages of high speed analysis and high sensitivity, and is suitable for detecting terbutazone residues in vegetables and fruits.

KEY WORDS: terbufos; terbufos-sulfone; terbufos-sulfoxide; high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry; vegetable and fruit

1 引言

特丁硫磷(terbufos), 又名特丁磷, 化学名为 O,O-二乙基-S-特丁硫甲基二硫代硫酸酯。特丁硫磷是一种广谱、高效、高毒的有机磷杀虫剂, 具有内吸、触杀和熏蒸作用, 对多种土壤线虫及地下害虫的防治效果显著。根据农业部第199号公告^[1]和第1586号公告^[2]的明确规定, 特丁硫磷已被全面禁止销售和使用。

特丁硫磷在土壤中可氧化分解为特丁硫磷砒和特丁硫磷亚砒, 特丁硫磷砒和特丁硫磷亚砒的毒性与特丁硫磷相似, 但却具有更强的流动性和持久性^[3]。国家标准 GB 2763-2016^[4]中规定, 特丁硫磷残留物为特丁硫磷及其氧类似物(砒、亚砒)之和, 以特丁硫磷表示, 其在蔬菜、水果中的检测方法按照 NY/T 761-2008^[5]和 NY/T 1379-2007^[6]规定的方法测定, 但这2种检测方法仅规定了特丁硫磷的检测方法, 而未涉及特丁硫磷砒和特丁硫磷亚砒这2种农药的检测。

目前主要采用气相色谱法^[7,8]和气相色谱-质谱联用法^[9-13]对蔬菜水果中的特丁硫磷进行测定, 待测样品经乙腈提取后, 还需要净化、浓缩(旋蒸、氮吹)等实验步骤, 样品前处理步骤繁琐, 前处理过程对回收率影响较大; 待测样品的检测分析时间较长, 工作效率低^[14,15]。对于特丁硫磷的代谢产物特丁硫磷砒及特丁硫磷亚砒的检测研究较多, 而有关蔬菜水果中特丁硫磷、特丁硫磷砒和特丁硫磷亚砒3种农药同时测定的相关研究较少。

本文通过采用液相色谱-质谱联用法作为检测手段, 优化液相端和质谱端的检测条件, 对蔬菜和水果中的特丁硫磷、特丁硫磷砒和特丁硫磷亚砒同时进行检测分析, 该方法样品前处理简洁, 并在5.50 min之内完成3种目标物的定量分析, 从而实现对待测样品的准确、快速、高效的分析要求, 为相关检测机构日常检测工作提供参考。

2 材料与方法

2.1 仪器与试剂

甲醇、乙腈(色谱纯, 美国 TEDIA 有限公司); 乙酸铵(色谱纯, 美国赛默飞世尔公司); 甲酸(色谱纯, 北京 MREDA 科技有限公司); 丙酮(分析纯, 国药集团化学试剂有限公司); 纯水(杭州娃哈哈集团有限公司); 氯化钠(分析纯, 成都金山化学试剂有限公司)。特丁硫磷、特丁硫磷砒、特丁硫磷亚砒农药标准物质(1000 mg/L, 农业部环

境质量监督检验测试中心); 有机系滤膜(0.22 μm , 美国 PALL 公司)。

取适量特丁硫磷类农药标准品, 分别用丙酮稀释并定容, 配制成 90 mg/L 标准储备液, 将各标准储备液置于 -20 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱冷藏密封避光保存。用甲醇将标准储备液稀释成不同浓度的混合标准工作溶液, 现配现用。

4000 QTRAP 三重四级杆质谱仪(美国 AB SCIEX 公司); LC-20 AD XR 高效液相色谱仪(日本岛津公司); BS224S 电子分析天平(德国赛多利斯公司)。

2.2 实验方法

2.2.1 样品前处理

称取 20 g 试样(精确至 0.01 g)于 250 mL 烧杯中, 加入 40 mL 乙腈, 用高速匀浆机匀浆提取 3 min, 滤纸过滤, 收集滤液于 50 mL 装有 5~7 g 氯化钠的比色管中, 剧烈震荡摇匀, 静置 30 min, 吸取上层清液经 0.22 μm 滤膜过滤后进行液相色谱-串联质谱测定。

2.2.2 色谱条件

色谱柱: Phenomenex C_{18} (150 mm $\times$ 2.0 mm, 5 μm)色谱柱; 流动相: 0.1%乙酸铵甲醇溶液(A相)和 0.1%甲酸乙酸铵水溶液(B相); 梯度洗脱程序: 0.20 min(60% B相) $\rightarrow$ 3.00 min(5% B相) $\rightarrow$ 3.50 min(5% B相) $\rightarrow$ 3.55 min(60% B相) $\rightarrow$ 5.50 min(stop); 流速: 0.5 mL/min; 柱温: 35 $^{\circ}\text{C}$; 进样量: 2 μL 。

2.2.3 质谱条件

采用 ESI 正离子检测, 多反应监测模式(multi-reaction monitoring, MRM)测定, 主要质谱参数, 气帘气: 25.0 psi; 碰撞气: 6.0 psi; 离子喷雾电压: 5500.0 V; 离子源温度: 650 $^{\circ}\text{C}$; 雾化气: 50.0 psi; 加热辅助气: 60.0 psi。

3 结果与分析

3.1 质谱条件

表1为特丁硫磷类农药的质谱采集参数和图1是浓度为 0.144 $\mu\text{g/mL}$ 特丁硫磷、特丁硫磷砒及特丁硫磷亚砒标准样品的色谱图, 根据测定结果可知, 质谱能够对特丁硫磷、特丁硫磷砒和特丁硫磷亚砒进行准确的定性分析, 3种农药出峰时间稳定, 分别为 4.52、3.64 和 3.66 min; 可用于标准品及果蔬样品的定性定量分析。

3.2 线性范围

配制浓度为 0.0144、0.036、0.072、0.144、0.288 mg/mL

的系列特丁硫磷类混合标准溶液,按本研究的色谱-质谱条件进行测定,使用外标法定量,以浓度为横坐标,峰面积为纵坐标,绘制标准曲线。所得标准曲线线性关系良好,标准曲线的相关系数 r 在 0.9997 以上,线性方程及相关系数见表 2。

3.3 精密度实验

对不同浓度混合标准工作液连续测定 6 次,考察仪器的精密度,保留时间和峰面积的重复性结果如表 3 所示,结果显示:不同浓度标准品保留时间和峰面积的相对标准偏差 (relative standard deviation, RSD) 分别在 0.090%~0.229%, 0.513%~3.910%之间,仪器精密度良好。

3.4 灵敏度实验

为考察仪器灵敏度和方法检出限,在空白蔬菜样品中添加低浓度混合标准工作液,并按照本研究的色谱-质谱条件进行测定。通过 Analyst Software 软件中的数据处理

系统计算特丁硫磷、特丁硫磷砒和特丁硫磷亚砒的信噪比 (S/N)、检出限(3 倍信噪比计算)及离子丰度比,结果见表 4。该方法检出限低,灵敏度高。

3.5 加标回收实验

分别以青椒、甘蓝、苹果和香蕉为待测样品,检测其中特丁硫磷、特丁硫磷砒和特丁硫磷亚砒 3 种农药含量,结果显示未检出。为研究该前处理方法对不同浓度农药的提取效率,将上述 4 种样品作为研究对象,分别准确称取 20 g 试样,加入高、中和低 3 种不同浓度的特丁硫磷、特丁硫磷砒和特丁硫磷亚砒标准混合溶液并且每个试样分别做 5 个平行,按 2.2 实验方法进行样品前处理,上机测定,结果如表 5,特丁硫磷、特丁硫磷砒和特丁硫磷亚砒的加标回收率均在 84.8%~103.0%之间。图 2 为典型的空白样品图谱(以苹果为例),图 3 为添加量为 0.090 mg/kg 时的苹果样品检测图谱。

表 1 特丁硫磷类农药质谱采集参数
Table 1 Mass spectrometry acquisition parameters of terbutazone pesticides

化合物名称	母离子	子离子	DP	CE	CXP
特丁硫磷	289.1	103.2*	54.05	12.12	18.08
		233.2	54.05	8.98	12.87
特丁硫磷砒	338.0	321.2*	46.07	11.41	18.99
		171.2	46.07	22.91	31.84
特丁硫磷亚砒	305.1	187.0*	56.7	16.22	9.74
		243.3	56.7	10.82	13.76

注: *表示定量离子。

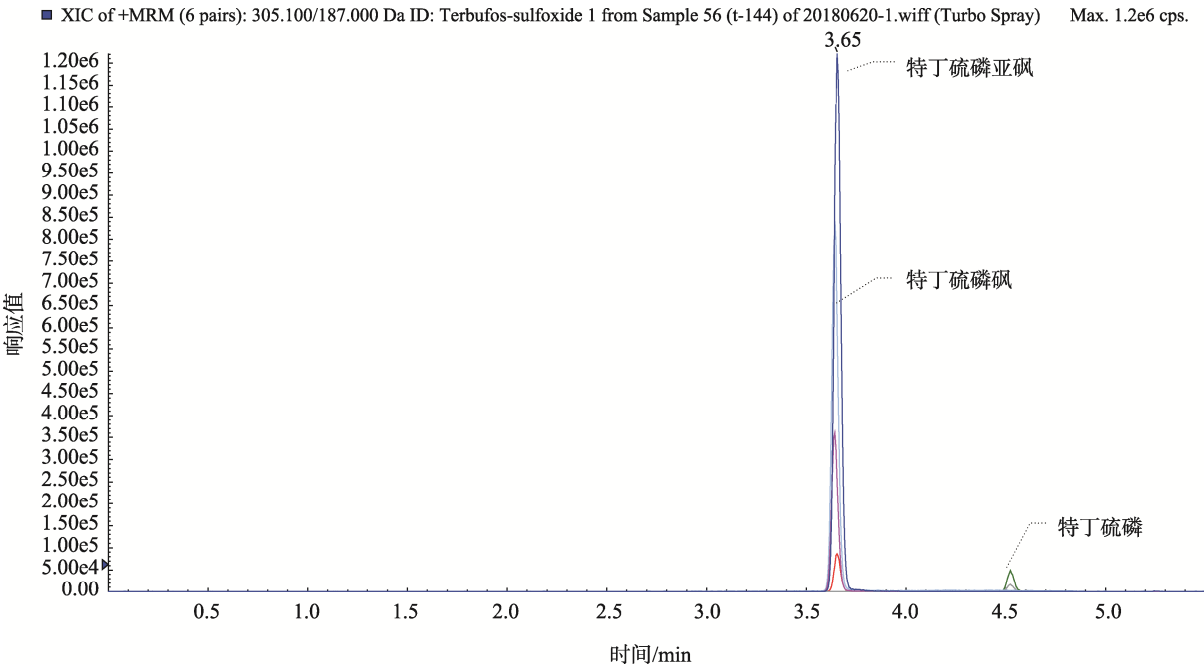


图 1 特丁硫磷、特丁硫磷砒及特丁硫磷亚砒标准样品的色谱图
Fig. 1 Chromatogram of tetrathion, tetrathion sulfone and tetrathion sulfone standard samples

表 2 校准曲线参数 Table 2 Calibration curve parameters			
名称	校准曲线	线性范围/(μg/L)	相关系数 <i>r</i>
特丁硫磷	$Y=813X+348$	14.4~288	1.0000
特丁硫磷砒	$Y=1.53e^{+004}X+1.52e^{+004}$	14.4~288	0.9999
特丁硫磷亚砒	$Y=2.45e^{+004}X+1.28e^{+004}$	14.4~288	0.9997

表 3 保留时间和峰面积的重复性结果(<i>n</i> =6) Table 3 Reproducibility of retention time and peak area (<i>n</i> =6)						
样品名称	RSD/(14.4 μg/L)		RSD/(36.0 μg/L)		RSD/(144.0 μg/L)	
	保留时间	峰面积	保留时间	峰面积	保留时间	峰面积
特丁硫磷	0.181	3.910	0.090	2.110	0.229	1.460
特丁硫磷砒	0.207	1.680	0.142	1.252	0.174	0.609
特丁硫磷亚砒	0.141	0.513	0.141	0.906	0.141	0.722

表 4 信噪比和方法检出限 Table 4 Signal-to-noise ratio and detection limit				
名称	浓度/(μg/L)	<i>S/N</i>	检出限/(μg/kg)	离子丰度比(预期值)
特丁硫磷	1.22	5.8	0.63	31.6%(32.9%)
特丁硫磷砒	1.67	10.8	0.46	42.9%(43.5%)
特丁硫磷亚砒	1.61	41.1	0.12	7.1%(7.0%)

表 5 样品中的加标回收率(<i>n</i> =5) Table 5 Recoveries of samples (<i>n</i> =5)							
样品	添加量/(mg/kg)	平均回收率/%			RSD/%		
		特丁硫磷	特丁硫磷砒	特丁硫磷亚砒	特丁硫磷	特丁硫磷砒	特丁硫磷亚砒
青椒	0.027	102	103	94	1.104	1.439	1.364
	0.090	102.2	96.6	92.1	6.289	2.460	2.010
	0.180	103.0	87.6	84.8	2.366	0.815	0.473
甘蓝	0.027	91.9	94.9	91.8	4.335	5.729	5.188
	0.090	91.8	93.5	96.8	15.622	14.922	14.448
	0.180	96.8	98.2	95.7	3.640	4.920	3.569
苹果	0.027	93.5	98.8	97.6	4.721	1.846	2.564
	0.090	95.0	91.9	96.8	5.263	6.504	2.923
	0.180	97.8	99.9	97.4	2.367	3.062	1.640
香蕉	0.027	100.9	100.1	98.1	2.415	1.053	1.525
	0.090	99.3	99.7	97.1	2.453	0.905	0.847
	0.180	98.32	95.7	90.9	1.434	4.197	3.911

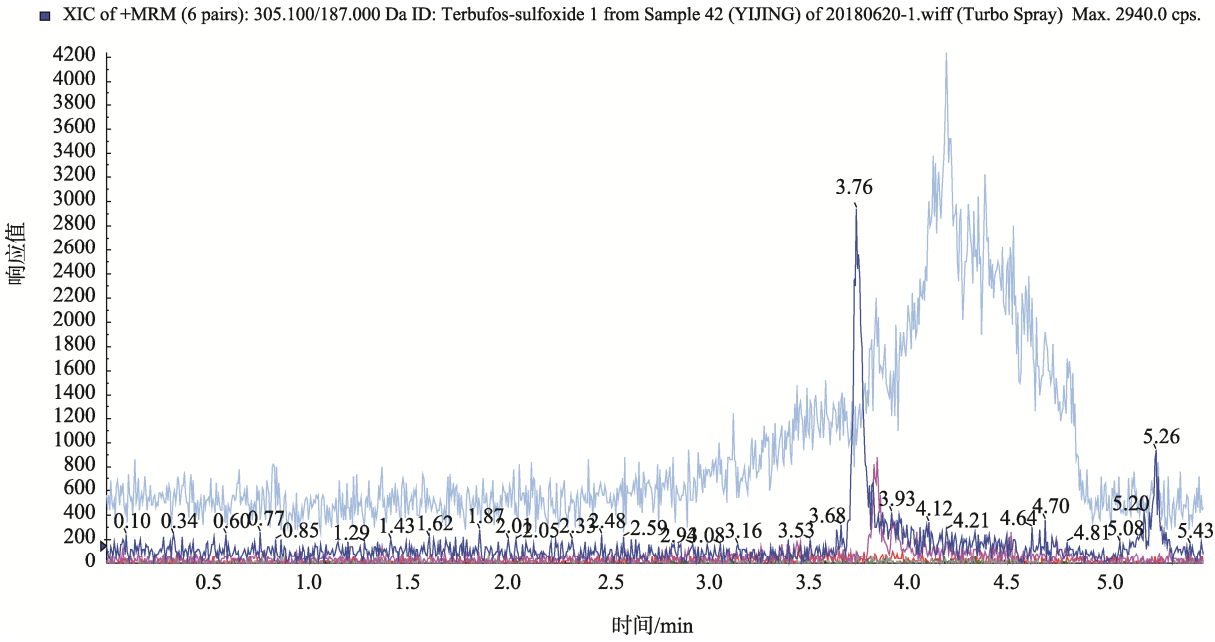


图 2 苹果空白样品色谱图
Fig. 2 Chromatogram of apple blank sample

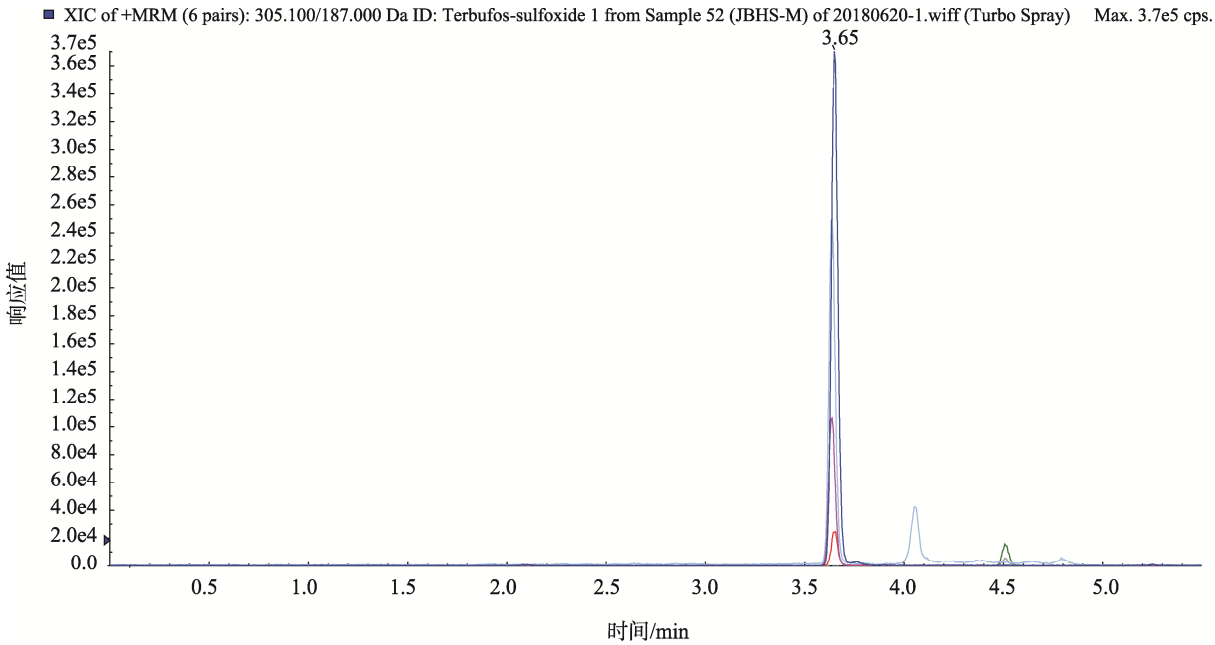


图 3 加标苹果样品液相色谱质谱图
Fig. 3 Liquid chromatography-mass spectrogram of the standardized apple samples

4 结 论

本研究建立了一种使用高效液相色谱仪和三重四级杆质谱仪联用测定蔬菜、水果中特丁硫磷、特丁硫磷砒和特丁硫磷亚砒农药的分析方法。该方法在 5.50 min 内完成 3 种目

标物的分析测定,检出限低,精密度高,线性范围宽,校准曲线的相关系数均在 0.999 以上。在青椒等 4 种果蔬中检测到特丁硫磷、特丁硫磷砒和特丁硫磷亚砒农药的加标回收率在 84.8%~103.0%之间。该方法具有分析速度快、灵敏高的特点,适合于蔬菜、水果中特丁硫磷类残留物的检测。

参考文献

- [1] 中华人民共和国农业部公告第 199 号. 公布国家明令禁止使用的农药和不得在蔬菜、果树、茶叶、中草药材上使用的高毒农药品种清单 [EB/OL]. [2002-6-5]. http://jiuban.moa.gov.cn/zwlml/tzgg/gg/200210/t20021016_14307.htm
Notice of the ministry of agriculture of the People's Republic of China No.199. To publish a list of pesticides expressly prohibited by the state and varieties of highly toxic pesticides prohibited from being used on vegetables, fruit trees, tea leaves and medicinal herbs [EB/OL]. [2002-6-5]. http://jiuban.moa.gov.cn/zwlml/tzgg/gg/200210/t20021016_14307.htm
- [2] 中华人民共和国农业部公告第 1586 号 [EB/OL]. [2011-7-5]. http://jiuban.moa.gov.cn/zwlml/tzgg/gg/201107/t20110705_2045813.htm
Notice of the ministry of agriculture of the People's Republic of China No.1586 [EB/OL]. [2011-7-5]. http://jiuban.moa.gov.cn/zwlml/tzgg/gg/201107/t20110705_2045813.htm
- [3] Bowman BT, Sans WW. Adsorption, desorption, soil mobility, aqueous persistence and octanol-water partitioning co-efficients of terbufos, terbufos sulfoxide, terbufos sulfone [J]. Environ Sci Health B, 1982, (17): 447-462.
- [4] GB 2763-2014 食品中农药最大残留限量[S].
GB 2763-2014 Maximum residue limit of pesticide in food [S].
- [5] 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 Determination of organophosphorus, organochlorine, pyrethroid and carbamate residues in vegetables and fruits [S].
- [6] NY/T 1379-2007 蔬菜中 334 种农药多残留的测定气相色谱质谱法和液相色谱质谱法[S].
NY/T 1379-2007 Determination of 334 pesticide residues in vegetables by gas chromatography-mass spectrometry and liquid chromatography-mass spectrometry [S].
- [7] 贺红周, 范小伟, 赵敬坤, 等. 农药样品中添加甲拌磷、特丁硫磷、对硫磷的气相色谱分析[J]. 南方农业, 2011, 5(5): 53-55.
He HZ, Fan XW, Zhao JK, *et al.* Gas chromatographic analysis of methidathion, tetrathionophos and parathion was carried out in pesticide samples [J]. South China Agric, 2011, 5(5): 53-55.
- [8] 吴文涛, 单正军. 特丁硫磷在环境中的迁移性研究[J]. 农药学报, 2011, 13(2): 174-179.
Wu WT, Shan ZJ. Study on the environmental mobility of tetrathionophos [J]. Chin J Pestic Sci, 2011, 13(2): 174-179.
- [9] 高艺菱, 陈萍虹, 聂丹丹. 气相色谱-串联质谱双内标法测定茶叶中 53 种农药残留[J]. 色谱, 2018, 36(6): 531-540.
Gao YX, Chen PH, Nie DD. Determination of 53 pesticide residues in tea by gas chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Chin J Chromatogr, 2018, 36(6): 531-540.
- [10] 张秋园, 林晓旭, 廖洁莹, 等. 气相色谱法测定蔬菜、水果中特丁硫磷砒和特丁硫磷亚砒残留量[J]. 山东化工, 2016, 45(14): 57-58.
- Zhang QY, Lin XX, Liao JY, *et al.* Determination of terbutenol sulfone and tert-butyl sulfoxide residues in vegetables and fruits by gas chromatography [J]. Shandong Chem Ind, 2016, 45(14): 57-58.
- [11] 马杰, 李青, 白梅, 等. QuEChERS 前处理技术与在线凝胶渗透色谱-气相色谱质谱联用法测定蔬菜水果中 20 种农药残留[J]. 食品安全质量检测学报, 2016, 7(1): 20-26.
Ma J, Li Q, Bai M, *et al.* Determination of 20 pesticide residues in vegetables and fruits by QuEChERS pretreatment and on-line gel permeation chromatography-gas chromatography-mass spectrometry [J]. J Food Saf Qual, 2016, 7(1): 20-26.
- [12] 田海, 谭辉华, 李雪生, 等. 分散液相微萃取-气相色谱法快速测定甘蔗中特丁硫磷残留[J]. 现代农药, 2012, 11(2): 43-46.
Tian H, Tan HH, Li XS, *et al.* Rapid determination of tetrathionophos residues in sugarcane by dispersive liquid phase microextraction-gas chromatography [J]. Mod Agrochem, 2012, 11(2): 43-46.
- [13] 李俊, 蔡涛, 周雪丽, 等. 气相色谱-三重四级杆质谱法同时测定农药中 32 种隐性添加成分[J]. 食品安全质量检测学报, 2018, 7(9): 3219-3225.
Li J, Cai T, Zhou XL, *et al.* Simultaneous determination of 32 implicit additives in pesticides by gas chromatography-triple quadrupole mass spectrometry [J]. J Food Saf Qual, 2018, 7(9): 3219-3225.
- [14] 陈丽娥, 董晓尉. 气相色谱检测果蔬中有机磷农药残留方法[J]. 南方农业, 2017, 11(2): 86-88.
Chen LE, Dong XL. Determination of organophosphorus pesticide residues in fruits and vegetables by gas chromatography [J]. South China Agric, 2017, 11(2): 86-88.
- [15] Catherine B, Choung, Ross V, *et al.* Toxicity of the insecticide terbufos, its oxidation metabolites, and the herbicide atrazine in binary mixtures to ceriodaphnia cf dubia [J]. Arch Environ Contam Toxicol, 2011, (60): 417-425.

(责任编辑: 韩晓红)

作者简介

刘佳, 硕士, 实验师, 主要研究方向为食品农产品质量安全及仪器分析工作。

E-mail: liujia5100@126.com



蔡滔, 高级农艺师, 主要研究方向为农产品安全监管。

E-mail: ct88win@163.com