

# 超高效液相色谱-串联质谱法同时测定柑橘中的吡虫啉、啉虫脒和噻嗪酮残留量

雷美康<sup>1,2\*</sup>, 彭芳<sup>1,2</sup>, 徐佳文<sup>1,2</sup>, 祝子铜<sup>1,2</sup>, 余琪<sup>1,2</sup>, 吴小珍<sup>1,2</sup>

(1. 衢州海关技术中心, 衢州 324003; 2. 杭州海关技术中心衢州综合技术服务部, 衢州 324003)

**摘要: 目的** 建立超高效液相色谱-串联质谱同时检测柑橘中吡虫啉、啉虫脒和噻嗪酮残留的分析方法。

**方法** 样品经酸化乙腈溶液提取后加入盐析剂分层, 然后在提取液中加入无水硫酸镁、十八烷基键合硅胶吸附剂(C<sub>18</sub>)和 N-丙基乙二胺吸附剂(PSA)填料进行基于 QuEChERS 法净化, 采用高效液相色谱-串联质谱法进行检测。选用电喷雾离子源正离子(electrospray ionization, ESI<sup>+</sup>)以及多反应监测(multi-reaction monitoring, MRM)模式。**结果** 吡虫啉、啉虫脒和噻嗪酮在 2~50 μg/kg 范围内具有较好的线性关系, 相关系数均优于 0.998。吡虫啉、啉虫脒和噻嗪酮方法定量限分别为 2.00、0.12 和 4.00 μg/kg, 添加水平的回收率为 69.5%~118.3%, 相对标准偏差(relative standard deviations, RSD)为 1.8%~10.7% (n=8)。**结论** 本方法速度快、灵敏度高、准确性好, 可用于柑橘样品中吡虫啉、啉虫脒和噻嗪酮残留量的定性和定量检测。

**关键词:** QuEChERS; 超高效液相色谱-串联质谱; 柑橘; 吡虫啉; 啉虫脒; 噻嗪酮

## Simultaneous determination of imidacloprid, acetamiprid and buprofezin residues in citrus by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry

LEI Mei-Kang<sup>1,2\*</sup>, PENG Fang<sup>1,2</sup>, XU Jia-Wen<sup>1,2</sup>, ZHU Zi-Tong<sup>1,2</sup>, YU Qi<sup>1,2</sup>, WU Xiao-Zhen<sup>1,2</sup>

(1. Technical Center of Quzhou Customs, Qu Zhou 324002, China; 2. Quzhou comprehensive technical service department of Hangzhou Customs Technical Center, Qu Zhou 324002, China)

**ABSTRACT: Objective** To establish a method for simultaneous determination of the residues of imidacloprid, acetamiprid and buprofezin in citrus by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometric. **Methods** The samples were extracted with acidified acetonitrile solution and layered with salting out agent. Then the samples were purified with MgSO<sub>4</sub>, octadecyl bonded silica gel adsorbent (C<sub>18</sub>) and n-propyl ethylenediamine adsorbent (PSA) based on QuEChERS method and finally detected by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometric, using positive electrospray ionization(ESI<sup>+</sup>) mode and MRM. **Results** The linear relationship among imidacloprid, acetamiprid and buprofezin was good in the concentration range of 2–50 μg/kg, with correlation coefficient over 0.998. The limits of quantification for imidacloprid, acetamiprid and buprofezin were 2.00, 0.12 and 4.00 μg/kg, respectively. The recovery was 69.5%–118.3% and the relative standard deviation(RSD) was 1.8%–10.7%(n=8). **Conclusion** The method is rapid, sensitive and accurate, and can be applied

基金项目: 浙江省公益性技术应用研究计划项目(2013C37036, 2013C37101)

Fund: Supported by Research on Public Welfare Technology Application Projects of Zhejiang Province (2013C37036, 2013C37101)

\*通讯作者: 雷美康, 高级工程师, 主要研究方向为食品质量分析与检测。E-mail: leimeikang@163.com

\*Corresponding author: LEI Mei-Kang, Senior Engineer, Technical Center of Quzhou Customs, Quzhou 324003, China. E-mail: leimeikang@163.com

for the qualitative and quantitative analysis of imidacloprid, acetamiprid and buprofezin in citrus.

**KEY WORDS:** QuEChERS; ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry; citrus; imidacloprid; acetamiprid; buprofezin

## 1 引言

柑橘是我国南方地区栽培面积大、经济地位重要的果品之一, 2017 年我国柑橘种植面积 258.7 万公顷, 产量为 3816.8 万吨, 栽培面积和产量均居世界之首<sup>[1-3]</sup>。为保证柑橘的产量和质量, 橘农在种植柑橘的过程中广泛使用吡虫啉、啉虫脒、噻嗪酮等农药用于防治病虫害<sup>[4-6]</sup>。近年来, 柑橘中残留农药对人体的危害越来越受到人们的关注, 同时国家对柑橘中吡虫啉、啉虫脒、噻嗪酮等农药残留进行了严格规定, GB 2763-2019《食品安全国家标准 食品中农药最大残留限量》<sup>[7]</sup>中规定柑橘中吡虫啉的最大残留限量为 1 mg/kg, 啉虫脒和噻嗪酮的最大残留限量均为 0.5 mg/kg。

目前, 柑橘中农药残留检测方法主要有液相法<sup>[8]</sup>、液质法<sup>[9]</sup>等。液相色谱-串联质谱法为 GB/T 20769-2008《水果和蔬菜中 450 种农药及相关化学品残留量的测定 液相色谱-串联质谱法》<sup>[10]</sup>中柑橘中吡虫啉、啉虫脒和噻嗪酮的检测方法, 但该方法存在前处理较复杂, 使用甲苯等毒性较强的有机溶剂等缺点。本方法建立了酸化乙腈提取-QuEChERS 法净化-超高效液相色谱-电喷雾串联四级杆质谱法来同时检测椪柑、蜜桔和胡柚中吡虫啉、啉虫脒和噻嗪酮残留的方法研究, 前处理方法简单, 可以用于实际样品中吡虫啉、啉虫脒和噻嗪酮的定性和定量分析。

## 2 材料与方 法

### 2.1 实验材料

#### 2.1.1 实验仪器

Ultimate 3000 超高效液相色谱-TSQ Vantage 三重四极杆串联质谱联用仪(美国 Thermo Scientific 公司); MS 3 digital 漩渦混合器(德国 IKA 公司); TGC-10M 高速离心机(上海卢湘仪离心机有限公司); MULTIFUGE XIR 高速离心机(美国 Thermo 公司)。

#### 2.1.2 试剂与材料

啉虫脒(98.1%)、噻嗪酮(99.0%)、吡虫啉(100 μg/mL, 介质为乙腈)(德国 DR 公司); 乙腈、甲酸、乙酸(色谱纯, 美国 Fisher 公司); 氯化钠、无水硫酸镁、乙酸钠、柠檬酸钠、柠檬酸氢二钠(分析纯, 国药集团); N-丙基乙二胺吸附剂(PSA)、十八烷基键合硅胶吸附剂(C<sub>18</sub>)(德国 CNW 公司)。

样品采购于本地市场, 包含椪柑、蜜桔和胡柚。

### 2.2 实验方法

#### 2.2.1 标准溶液的配制

分别称取吡虫啉、啉虫脒和噻嗪酮标准品 10 mg(精确

至 0.1 mg), 用乙腈溶解并定容至 100 mL, 混匀配制成 100 mg/L 的单标储备液; 分别准确移取 1 mL 各单标储备液置于 100 mL 棕色容量瓶中, 用乙腈定容至刻度, 配成 1.0 mg/L 的混合标准中间液; 根据需要移取适量混合标准中间液, 用乙腈-水(含 0.15% 甲酸)(1:1;V/V)稀释成 2、5、10、20、50 μg/L 的标准工作溶液。各种标准溶液均密封保存于 4 °C 冰箱中。

#### 2.2.2 试样制备<sup>[7]</sup>

样品(全果, 去柄)经四分法选取一定量的样本, 经捣碎机匀浆, 在密闭容器中避光保存。

#### 2.2.3 提 取

称取试样 10 g(精确至 0.01 g)于 50 mL 具盖离心管中, 加入 20 mL 5% 甲酸乙腈溶液, 漩渦混合 2 min, 加入 1 g 氯化钠, 漩渦混合 1 min, 然后以 6000 r/min 离心 5 min。

#### 2.2.4 净 化

移取上清液 6 mL 于 15 mL 离心管中, 加入 150 mg C<sub>18</sub>、150 mg PSA、900 mg MgSO<sub>4</sub> 于漩渦混合振荡仪上振荡 30 s, 以 3000 r/min 离心 5 min。准确移取 1 mL 净化液, 加入等量的水混匀后经 0.22 μm 有机相滤膜过滤后用于分析。

#### 2.2.5 色谱和质谱条件

色谱柱: Hypersil GOLD C<sub>18</sub> 柱(50 mm×2.1 mm, 1.9 μm); 柱温: 35 °C; 进样量: 2 μL; 流速: 0.2 mL/min。流动相: A 为 0.15% 甲酸水溶液, B 为乙腈。梯度洗脱程序: 0~2.0 min, 90%A; 2.0~11.0 min, 90%A~5%A; 11.1~14.0 min, 5%A; 14.1~18.0 min, 90%A。

#### 2.2.6 质谱条件

扫描方式: 正模式扫描; 检测方式: 多反应监测(multi-reaction monitoring, MRM); 电喷雾电压: 3500 V; 鞘气: 207 kPa; 辅助气(Auxiliary gas flow): 10 arbitrary units; ; 毛细管温度: 350 °C; 蒸发温度: 300 °C; 碰撞气: 氩气(0.1995 pa)。SRM 监测离子对、S-Lens 电压、碰撞电压、扫描模式和保留时间等信息见表 1。

## 3 结果与分析

### 3.1 样品提取条件的优化

近年来, QuEChERS 方法被广泛应用于水果蔬菜中的多农药残留分析<sup>[11]</sup>。本研究比较了用乙腈中加入乙酸钠-乙酸缓冲溶液(AOAC Official Method 2007.01)、乙腈中加入柠檬酸钠-柠檬酸氢二钠(European Committee for standardization Standard Method EN 15662)、乙腈中加入甲酸的 3 种常用 QuEChERS 法对椪柑、蜜桔和胡柚样品中 3

种目标物的提取效率。结果表明,此 3 种不同方法对吡虫啉、啶虫脒和噻嗪酮 3 种杀虫剂的提取回收率能满足 GB/T 27404-2008《实验室质量控制规范 食品理化检测》的相关要求<sup>[12]</sup>,但由于酸化乙腈法相对操作简单,试剂用量少等特点,同时甲酸能提高测定目标物化合物的离子化效率<sup>[13]</sup>,所以本文采用酸化乙腈溶液作为提取溶剂。

### 3.2 色谱条件的优化

分别比较了乙腈-水、乙腈-0.15%甲酸水溶液流动相对吡虫啉、啶虫脒和噻嗪酮 3 种农药的分离效果和离子化程度

的影响,并优化选择了流动相流速和比例。优化后的色谱图如图 1 所示。结果表明,使用乙腈-0.15%甲酸水溶液体系时选择离子的色谱峰形和灵敏度均优于乙腈-水溶液体系。

### 3.3 质谱条件的优化

将吡虫啉、啶虫脒和噻嗪酮标准品溶液分别采用流动注射直接进样,通过多反应离子监测选择相对丰度高、干扰较小的离子对,确定为定量和定性离子对,同时优化 S-lens 电压、碰撞电压等参数,优化后的质谱参数见表 1,多反应监测色谱图如图 1 所示。

表 1 吡虫啉、啶虫脒和噻嗪酮的多反应监测质谱参数  
Table 1 Mass spectrometry parameters of imidacloprid, acetamiprid and thiazinone

分析物	质荷比( $m/z$ )	S-Lens 电压/V	碰撞能量/eV	扫描模式	保留时间/min
吡虫啉	256.1/209.2*; 256.1/175.2	65	16:18	正模式	5.70
啶虫脒	223.1/126.1*; 223.1/90.1	69	20:35	正模式	6.23
噻嗪酮	306.2/201.2*; 306.2/116.1	63	11:16	正模式	9.98

\*:定量离子对。

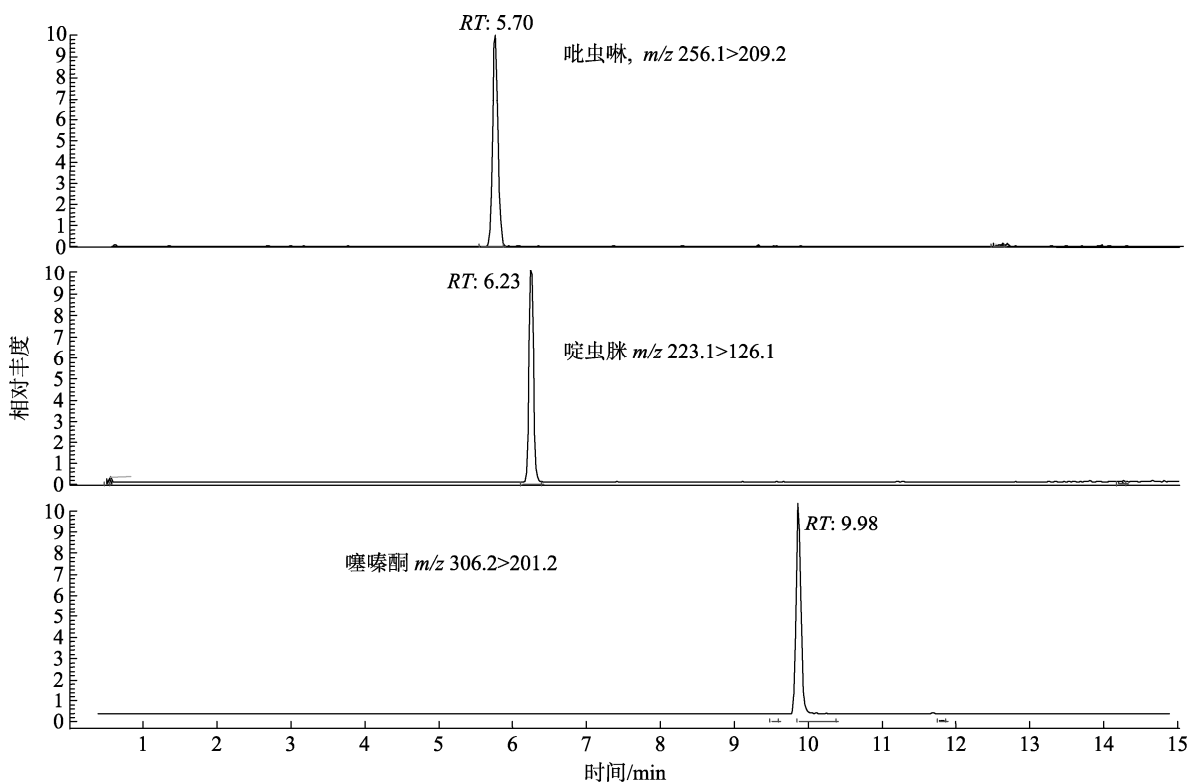


图 1 混合标准溶液(10  $\mu\text{g}/\text{kg}$ )的多反应监测色谱图

Fig.1 Chromatograms of the standards of imidacloprid, acetamiprid and buprofezin (10  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) by MRM mode

### 3.4 基质效应

分别以椪柑、蜜桔及胡柚的空白提取净化液作为标准溶液的稀释液,以各组分的峰面积对质量浓度绘制基质加标标准曲线,将其斜率与标准品的标准曲线的斜率相比,带基质的标准曲线斜率为流动相配制的 79.5%–108.3%。结

果表明经过净化处理的椪柑、蜜桔和胡柚样品对各目标物的基质效应影响不明显<sup>[14]</sup>。

### 3.5 方法的线性范围和定量限

配制一系列不同浓度的混合标准工作溶液(2、5、10、20、50  $\mu\text{g}/\text{L}$ ),并依次进样,分别以吡虫啉、啶虫脒和噻嗪

酮的峰面积  $Y$  为纵坐标, 以相应的浓度值  $X$  为横坐标, 作标准曲线, 结果表明, 这 3 种目标物在 2~50 ng/mL 范围内其浓度与峰面积呈良好的线性关系, 相关系数  $r^2$  大于 0.998。以实际检测时的信噪比( $S/N>10$ )确定吡虫啉、啉虫脒和噻嗪酮方法定量限(limit of quantitation, LOQ)分别为 2.00、0.12 和 4.00  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , 满足实际柑橘样品中吡虫啉、啉虫脒和噻嗪酮的检测要求, 见表 2。

表 2 吡虫啉、啉虫脒和噻嗪酮的线性方程, 相关系数及定量限  
Table 2 Linear equations, correlation coefficients and LOQs of target compounds

分析物	线性方程	相关系数( $r^2$ )	LOQ/( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )
吡虫啉	$Y=6982.6X+2258.9$	0.9996	2.00
啉虫脒	$Y=15198.2X+4359.5$	0.9994	0.12
噻嗪酮	$Y=39944.5X+6650.6$	0.9999	4.00

### 3.6 方法的回收率和精密度

分别在 5 和 40  $\mu\text{g}/\text{kg}$  水平下进行空白加标回收率试验, 每个水平重复 8 次, 测定平均回收率及精密度, 结果见表 3。5  $\mu\text{g}/\text{kg}$  添加水平时农药的回收率为 69.5%~118.3%, RSD 为 3.0%~10.7%; 40  $\mu\text{g}/\text{kg}$  添加水平时农药的回收率为 76.0%~111.7%, RSD 为 1.8%~6.6%。参照 GB/T 27404-2008 《实验室质量控制规范 食品理化检测》的相关要求, 本文方法符合日常柑橘样品农药残留检测的要求。

表 3 吡虫啉、啉虫脒和噻嗪酮的平均回收率和相对标准偏差 ( $n=8$ )

Table 3 Spiked recoveries and RSDs of imidacloprid, acetamiprid and buprofezin in citrus ( $n=8$ )

试样 分析物	5 $\mu\text{g}/\text{kg}$		40 $\mu\text{g}/\text{kg}$	
	回收率/%	RSD/%	回收率/%	RSD/%
吡虫啉	113.1	8.1	111.7	6.1
桠柑 啉虫脒	69.5	4.8	78.9	6.0
噻嗪酮	99.1	5.5	104.7	6.6
吡虫啉	118.3	10.7	105.6	4.8
蜜桔 啉虫脒	85.7	4.6	76.0	4.1
噻嗪酮	99.2	3.0	101.7	1.8
吡虫啉	103.8	6.4	109.3	4.8
胡柚 啉虫脒	88.3	4.7	100.2	5.1
噻嗪酮	95.9	3.6	103.8	3.7

### 3.7 实际样品测定

应用本方法对 23 份桠柑、14 份蜜桔和 3 份胡柚样品测定, 其中有 3 份样品检出吡虫啉, 含量为 3~9  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ; 3 份

样品检出啉虫脒, 含量为 1~19  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ; 10 份样品检出噻嗪酮, 含量为 1~57  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

## 4 结论与讨论

本文建立了超高效液相色谱-串联质谱法同时测定柑橘(桠柑、蜜桔和胡柚)中吡虫啉、啉虫脒和噻嗪酮残留量的分析方法。采用酸化乙腈溶液提取后进行 QuEChERS 法净化, 有效提高了提取率, 减少了杂质的干扰。该方法作为柑橘中吡虫啉、啉虫脒和噻嗪酮残留的确证和定量方法, 具有简便、灵敏、准确的优点, 可以用于日常的桠柑、蜜桔和胡柚等柑橘样品检测。

### 参考文献

- 田楠坤. 全国及四川省柑橘生产现状及未来发展预测[J]. 粮食科技与经济, 2019, 44(7): 129-131.  
Tian NK. Production status and future development forecast of citrus in China and Sichuan province [J]. Grain Sci Technol Eco, 2019, 44(7): 129-131.
- 沈兆敏. 我国柑橘生产现状及未来前景展望[J]. 果农之友, 2019, (2): 1-4.  
Shen ZM. Present situation and future prospect of citrus production in China [J]. Fruit Grow Friend, 2019, (2): 1-4.
- 彭芳, 雷美康, 梅凯. 凝胶渗透色谱-气相色谱-质谱法测定柑橘及其制品中抑霉唑的残留量[J]. 理化检验-化学分册, 2012, 48(12): 1389-1391.  
Peng F, Lei MK, Mei K. GC-MS determination of residual amounts of imazalil in citrus and citrus products with purification by gel permeation chromatography [J]. Phys Test Chem Anal Part B, 2012, 48(12): 1389-1391.
- 孔志强, 董丰收, 刘新刚, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法测定柑橘及柑橘精油中 4 种农药残留[J]. 分析化学, 2012, 40(3): 474-477.  
Kong ZQ, Dong FS, Liu XG, et al. Determination of 4 pesticides residues in citrus and essential oil by ultra performance liquid chromatography-mass spectrometry [J]. Chin J Anal Chem, 2012, 40(3): 474-477.
- 石贵华. 50%啉虫脒水分散剂在柑橘和土壤中残留量及消解动态[J]. 现代农药, 2012, 11(1): 46-49, 53.  
Shi GH. Residue and dynamic degradation studies of acetamiprid 50% WG in Orange and soil [J]. Adv Pestic, 2012, 11(1): 46-49, 53.
- 李小娇, 龚道新, 成应向, 等. 噻嗪酮在柑橘和土壤中的残留分析方法[J]. 浙江农业科学, 2010, (4): 849-852.  
Li XQ, Gong DX, Cheng YX, et al. Residue analysis of thiazinone in citrus and soil [J]. Zhejiang Agric Sci, 2010, (4): 849-852.
- GB 2763-2019 食品安全国家标准 食品中农药最大残留限量[S].  
GB 2763-2019 National food safety standard-National food safety standard-Maximum residue limits for pesticides in food [S].
- 卢兰香, 薛霞, 张艳侠, 等. 基于高效液相色谱法对农产品中吡虫啉的提取和净化[J]. 食品科学, 2019, 40(12): 315-320.  
Lu LX, Xue X, Zhang YX, et al. Comparison of sample pretreatment methods for the determination of imidacloprid residue in agricultural products by high performance liquid chromatography [J]. Food Sci, 2019,

- 40(12): 315–320.
- [9] 彭芳, 雷美康, 徐佳文, 等. QuEChERS 净化-超高效液相色谱-串联质谱法测定柑橘中 7 种保鲜剂的残留量[J]. 理化检验-化学分册, 2016, 52(9): 1007–1010.
- Peng F, Lei MK, Xu JW, *et al.* Determination of 7 preservatives in citrus by QuEChERS-UHPLC-MS/MS [J]. *Phys Test Chem Anal Part B*, 2016, 52(9): 1007–1010.
- [10] GB 20769-2008 水果和蔬菜中 450 种农药残留及相关化学品残留量的测定 液相色谱-串联质谱法[S].
- GB 20769-2008 Determination of 450 pesticide and related chemicals residues in fruits and vegetables-LC-MS-MS method [S].
- [11] Lehotay SJ, Son KA, Kwon H, *et al.* Comparison of QuEChERS sample preparation methods for the analysis of pesticide residues in fruits and vegetables [J]. *J Chromatogr A*, 2010, 1217(16): 2548–2560.
- [12] GB/T 27404-2008 实验室质量控制规范 食品理化检测[S].
- GB/T 27404-2008 Criterion on quality control of laboratories-Chemical testing of food [S].
- [13] 高洋洋, 张朝晖, 刘鑫, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法测定动物源性食品中的磺胺增效剂[J]. 色谱, 2014, 32(5): 524–528.
- Gao YY, Zhang CH, Liu X, *et al.* Determination of sulfonamide potentiators in animal origin foods by ultra performance liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. *Chin J Chromatogr*, 2014, 32(5): 524–528.
- [14] 王菲, 李彤, 马辰. 超高效液相色谱-串联质谱法测定中药材中三唑类杀菌剂及三嗪类除草剂的残留量[J]. 色谱, 2013, 31(3): 191–199.
- Wang F, Li T, Ma C. Determination of triazole fungicide and triazine herbicide residues in Chinese herbs by ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Chin J Chromatogr*, 2013, 31(3): 191–199.

(责任编辑: 李磅礴)

## 作者简介



雷美康, 高级工程师, 主要研究方向为食品质量分析与检测。

E-mail: leimeikang@163.com