

气相色谱-串联质谱法检测新疆地区水稻及其产地环境中咪鲜胺残留量

何玉玲*

(阿克苏地区农产品质量安全检验检测中心, 阿克苏 843000)

摘要: 目的 采用气相色谱-三重四极杆串联质谱法(gas chromatography-triple quadrupole mass spectrometry, GC-MS/MS)对新疆阿克苏地区的水稻及种植地的环境样品(水和土壤)中咪鲜胺的残留量进行检测与分析。

方法 不同样品采用相应的有机溶剂提取、固相萃取柱净化, 氮吹浓缩后上机测定。**结果** 不同样品的质控添加回收率在78.4%~108.1%之间, 相对标准偏差(RSD)范围在4.9%~8.3%之间, 在0.05~2.00 mg/L浓度范围内工作曲线的线性关系良好($r^2 > 0.999$)。**结论** 该方法的灵敏度、精密度和准确度均满足农药残留的检测分析要求, 适用于不同类型的样品中咪鲜胺残留的筛查与定性、定量分析。

关键词: 水稻; 咪鲜胺; 气相色谱-串联质谱法; 固相萃取

Determination of prochloraz residues in rice and environmental samples from Xinjiang by gas chromatography-tandem mass spectrometry

HE Yu-Ling*

(Aksu Region Agricultural Product Quality Safety Inspection and Testing Center, Aksu 843000, China)

ABSTRACT: Objective To detect and analyze the prochloraz residues in rice and environmental samples (water and soil) in Aksu region of Xinjiang by gas chromatography-triple quadrupole mass spectrometry (GC-MS/MS).

Methods Different samples were extracted with corresponding organic solvents, purified by solid phase extraction column, concentrated by nitrogen blowing, and then determined. **Results** The recoveries of different samples were 78.4%~108.1%, the relative standard deviations (RSDs) were 4.9%~8.3%, and the linear relationship of the working curve was good in the concentration range of 0.05~2.00 mg/L ($r^2 > 0.999$). **Conclusion** The sensitivity, precision and accuracy of this method meet the requirements of detection and analysis of pesticide residues, and which is suitable for screening, qualitative and quantitative analysis of prochloraz residues in different types of samples.

KEY WORDS: rice; prochloraz; gas chromatography-tandem mass spectrometry; solid phase extraction

1 引言

稻瘟病是水稻重要病害之一, 这是由一种稻瘟病菌引起的^[1], 可引起水稻大幅度减产, 严重时产量减少可达

40%~50%, 稻瘟病在全世界各水稻种植区域均有发生, 我国各水稻产区同样都有发生^[2]。稻瘟病在水稻整个生长周期都可能发生, 严重的危害秧苗、叶片、节及穗颈, 导致水稻的叶片呈褐色斑点或白斑, 进而枯萎或折断, 发病迟

*通讯作者: 何玉玲, 高级农艺师, 主要研究方向为农产品质量安全风险评估, 大型仪器分析和实验室计量认证。E-mail: heyuling1069@sina.com

*Corresponding author: HE Yu-Ling, Senior Agronomist, Aksu Region Agricultural Product Quality Safety Inspection and Testing Center, Aksu 843000, China. E-mail: heyuling1069@sina.com

的瘪粒增加, 粒质量明显下降, 影响米质和口感^[3]。目前, 咪鲜胺(prochloraz)是稻瘟病防治较有效的抗病药剂之一, 这是一种咪唑类杀菌剂, 通过麦角甾醇生物合成抑制剂, 具有高效、广谱、低毒, 同时具有预防保护、治疗和铲除病菌的作用^[4]。

目前, 已有文献报道采用色谱法^[5-8]、色谱-质谱联用法^[9-12]分别对不同样品中咪鲜胺残留量进行检测分析, 农产品在种植的过程中会大量的使用农药, 约有 70% 的药量未达到真正防治病虫害的作用, 最终会通过扩散作用进入环境土壤, 或通过迁移作用转移至农田灌溉水中, 因此很多的农药在使用的过程中都具有较大的环境风险, 综合评价某类农药在不同环境样品中的残留量以及迁移规律, 对于该地区的环境风险评价具有重要意义。

本研究以新疆农产品水稻为研究对象, 通过优化水稻与环境样品中咪鲜胺残留量的前处理条件, 采用气相色谱-串联质谱法建立不同样品中咪鲜胺残留量的检测方法, 旨在为农业生产上更好地使用咪鲜胺防治稻瘟病提供较好的指导, 同时检测结果为控制水稻中咪鲜胺残留量的水平以及该类化合物在不同样品中的分布及迁移过程的研究提供可靠的数据支持, 也对人体健康潜在危害的暴露水平的研究具有重要意义。

2 材料与方法

2.1 仪器与试剂

7890B-7000B 气相色谱-三重四级杆串联质谱仪(安捷伦科技有限公司); T18 digital 均质机(德国 IKA 公司); CT18RT 离心机(上海天美公司); Visiprep DL 固相萃取装置(美国 Supelco 公司); CP213 分析天平(美国 Ohaus 公司); MG-2000 氮吹仪、SB-1100 旋转蒸发仪(日本 EYELA 公司); 固相萃取柱(GCB-NH₂、C₁₈、HLB, 600 mg/5 mL, 德国 Waters 公司)。

正己烷、乙酸乙酯、乙腈、丙酮、甲醇(HPLC 级, 美国 Fisher 公司); 咪鲜胺标准品(100 μg/mL, 中国曼哈格公司)。

试验材料: 新疆阿克苏地区水稻种植基地, 水稻样品、产地土壤样品、农田灌溉水样。

2.2 实验方法

2.2.1 标准溶液的配制

准确移取咪鲜胺标准品用甲醇溶解, 配制为 10.0 μg/mL 的标准储备液, 避光冷藏保存。每次实验前用甲醇稀释至相应的工作曲线浓度点。

2.2.2 样品的采集与处理

土壤样品: 采集不同水稻产地种植区域表层(0~10 cm)土壤, 去除石块等杂物, 过筛后混匀, 封存后带回实验室, 使用冷冻干燥机进行冻干处理(24 h), 取出冻干土壤样品

后研磨成粉末状, 低温保存备用; 水稻样品: 采集后经粉碎研磨后存于冷藏冰箱保存; 灌溉水样: 采集产地区域的农田灌溉水, 放入棕色玻璃采样瓶中, 低温保存带回实验室, 冷藏保存。

2.2.3 样品前处理及净化

(1) 土壤样品

准确称取 5.00 g 土壤样品放入具塞锥形瓶中, 加入 20 mL 丙酮溶剂摇晃均匀, 超声萃取 20 min, 转移至抽滤瓶进行抽滤, 滤液经旋转蒸发仪浓缩近干, 残留液过 C₁₈-SPE 柱, 使用 2 mL 甲醇进行洗脱, 使用氮吹仪在 40 °C 条件下将洗脱液吹至近干, 用甲醇定容至 1.00 mL, 过 0.45 μm 滤膜, 待测。

(2) 水稻样品

准确称取 5.0 g 水稻粉末样品放入离心管中, 加入 20 mL 乙腈, 超声 20 min, 旋涡 3min 提取, 高速离心后分层取上层乙腈相 10.0 mL 于浓缩瓶中, 旋转蒸发浓缩至近干, 残留液通过石墨化炭黑-氨基柱进行净化, 首先使用 5 mL 乙腈/甲苯(3/1, V/V)活化柱子, 转移浓缩提取液至固相萃取柱中, 收集洗脱液, 再用 10.0 mL 乙腈/甲苯(3/1, V/V)淋洗小柱, 合并洗脱液后浓缩近干, 用甲醇定容至 1.00 mL, 过 0.45 μm 滤膜, 待测。

(3) 水样

将 HLB-SPE 柱依次用 5 mL 乙腈, 5 mL 水活化, 将 1 L 采集的水样通过固相萃取装置进行萃取, 萃取完成后, 使用 6.0 mL 乙腈洗脱, 洗脱液氮吹至近干, 用甲醇定容至 1.00 mL, 过 0.45 μm 滤膜, 待测。

2.2.4 色谱和质谱仪器条件

色谱柱: HP-5MS(30 m×0.25 mm, 0.5 μm); 载气: 氮气(99.999%); 恒流模式流速: 1.0 mL/min; 进样量: 1.00 μL (不分流进样); 进样口温度: 250 °C; 柱箱升温程序设定: 初始温度 80 °C, 以 20 °C/min 升温至 260 °C, 保持 10 min; 离子化方式: 电子轰击(EI, 70 eV); 离子源温度: 230 °C; 传输线温度: 270 °C; 溶剂延迟时间: 3 min; 扫描方式: 全离子扫描模式(full scan)和多反应监测模式(multireaction monitoring mode, MRM)。

3 结果与分析

3.1 质谱条件的优化

采用质谱仪的 full scan 模式对咪鲜胺(5.0 mg/L)进行分析, 在 *m/z* 50~450 的范围得到咪鲜胺的质谱图, 确定咪鲜胺的母离子后, 再通过优化子离子和各离子对的碰撞电压, 得到的质谱参数见表 1。

3.2 样品前处理条件优化

本次实验通过对空白土壤样品做加标回收试验(加标量为 0.20 mg/kg), 考察了丙酮、乙酸乙酯、丙酮-二氯甲烷

(体积比分别为 6:4 和 8:2)混合溶液对目标物咪鲜胺的提取效率。优化结果见图 1 所示,采用丙酮-二氯甲烷混合溶液作提取剂时,咪鲜胺的加标回收率可达 80%以上,而乙酸

乙酯和丙酮作提取剂时,回收率较低。故本次实验土壤样品中咪鲜胺的提取溶剂选择丙酮-二氯甲烷(6:4, V/V)混合溶液。

表 1 咪鲜胺的串联质谱检测条件及方法学参数(n=5)
Table 1 Testing conditions and methodological parameters for MS/MS analysis of prochloraz (n=5)

组分	保留时间/min	离子对(m/z)(碰撞电压/eV)	线性方程	相关系数 r^2	RSD%
咪鲜胺	7.86	196>97 (30) 180>138 (10)	$Y=666506X-14380$	0.9992	3.3

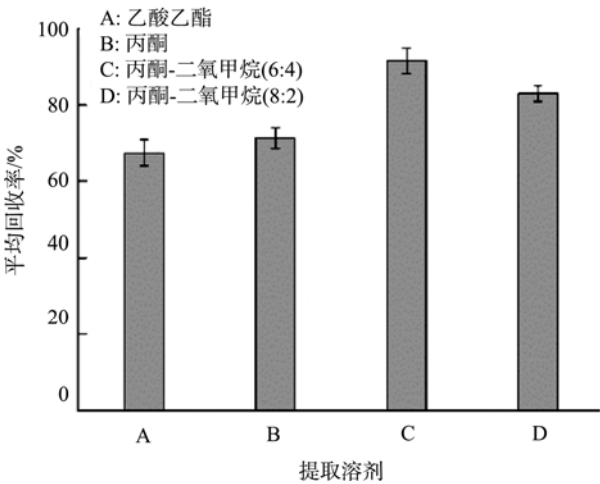


图 1 不同溶剂的提取效率(n=3)
Fig.1 Extraction efficiency of different solvents (n=3)

3.3 标准曲线

在设定的色谱-质谱仪器条件下,对系列浓度(0.05、0.10、0.20、0.50、1.00、2.00 mg/L)的咪鲜胺标准工作液进行分析,每个浓度点测定 5 次。以咪鲜胺的梯度浓度为横坐标,仪器采集的峰面积数值为纵坐标,绘制咪鲜胺的

工作曲线,得到的线性方程及相关系数见表 1,可见咪鲜胺在上述的浓度范围内具有良好的线性关系($r^2=0.9992$),图 2 为咪鲜胺标准品的色谱图。

3.4 方法的准确度、精密度和检出限

在不含目标农药残留的空白样品(土壤、灌溉水和水稻)中分别添加 3 个浓度水平的咪鲜胺标准品,按 2.2.3 进行样品前处理,通过 GC-MS/MS 仪器对上述样品进行测定,每个添加浓度平行测定 5 次,计算得到的回收率见表 2,咪鲜胺在水稻样品、土壤以及灌溉水中的平均回收率在 78.4%~108.1%范围内,相对标准偏差(RSD)在 4.9%~8.3%之间。在设定的仪器条件下,分别以 3 倍和 10 倍信噪比(S/N)作检出限(limit of detection, LOD)和定量限(limit of quantitation, LOQ),结果见表 2,本实验的准确度和精密度数值均符合农药残留检测分析的相关要求^[13]。

3.5 样品测定

有研究报道,咪鲜胺在植株、土壤和灌溉水的残留量均随着时间的推移而逐渐降低,咪鲜胺在水稻植株、土壤和灌溉水中的降解半衰期分别为 3.5~4.9 d, 5.1~9.5 d 和 3.8~5.7 d^[14]。由于咪鲜胺的化学性质较稳定,其迁移行为可能造成潜在的环境风险,因此需要根据农田的实际情况

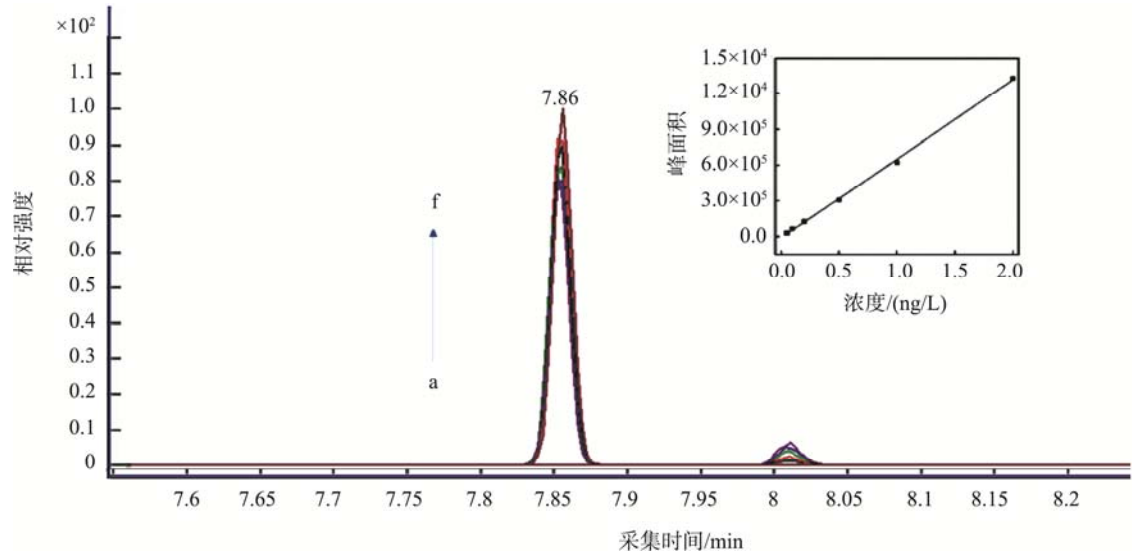


图 2 不同浓度咪鲜胺标准溶液色谱图(0.05~2.00 mg/L)
Fig.2 The chromatogram of different concentrations of prochloraz (0.05~2.00 mg/L)

表 2 不同样品加标回收率、相对标准偏差及检出限(n=5)
Table 2 Spiked recoveries, RSD, LODs and LOQs of prochloraz in different samples (n=5)

样品类型	添加量/(mg/kg)	平均回收率/%	RSD/%	LOD/(μg/kg)	LOQ/(μg/kg)
土壤	0.05	90.3	6.1	1.8	5.5
	0.20	94.5	7.9		
	1.00	108.1	6.5		
水稻	0.05	87.6	8.3	1.0	3.4
	0.20	85.2	5.7		
	1.00	88.6	5.5		
灌溉水*	0.05	78.4	4.9	2.3×10 ⁻³	7×10 ⁻³
	0.20	81.8	5.3		
	1.00	82.2	5.8		

注: *灌溉水添加量及检出限单位为 μg/L。

对咪鲜胺的施药剂量及频次加以控制^[6,15,16]。本次实验选择 5 个种植基地的样品进行采集和实验,咪鲜胺残留量的结果见表 3。本次实验对土壤样品进行检测发现有咪鲜胺残留量,但在农田灌溉水和稻米样品中均未有该农药检出,咪鲜胺在水稻和土壤中的残留消解程度存在差异,经研究发现,主要是喷洒农药期间的气候及种植区域土壤的类型等影响因子决定的。根据我国的食品安全国家标准规定咪鲜胺在稻米中的最大残留限量(maximum residue limit, MRL)为 0.5 mg/kg^[17],表明采样地区的水稻对人体健康无任何风险。

表 3 不同采样点样品中咪鲜胺的残留量(n=3)
Table 3 Average residue of prochloraz in samples of different area (n=3)

样品	平均残留量/(mg/kg)				
	1#	2#	3#	4#	5#
灌溉水	ND	ND	ND	ND	ND
土壤	0.028	0.032	0.019	ND	ND
水稻	ND	0.0017	ND	ND	ND

注: ND 表示未检出或低于方法检出浓度。

4 结 论

本次实验建立了气相色谱-串联质谱对水稻、土壤和水样中咪鲜胺残留量的检测方法,通过对咪鲜胺的系列浓度工作曲线进行测定,得到的线性回归方程相关系数大于 0.999,表明咪鲜胺在该浓度范围内有良好的线性关系,在对不同的样品中分别添加 3 个浓度水平的咪鲜胺进行方法学考察,回收率的结果良好,该方法可为不同种类样品中咪鲜胺的残留量测定提供参考依据。本次实验对实际样品

进行测定,结果表明咪鲜胺在部分土壤样品中有残留,但在农田灌溉水和水稻样品中均未检出,参考相关报道^[17],咪鲜胺在土壤表面很难通过光照进行降解反应,具有一定的累积性;而在水表面较易发生光降解,因此不会对环境水体造成风险。通过本次实验得到的结果,在后期的工作中将重点关注咪鲜胺在不同产地土壤中的动态消解参数,为农产品的生产和质量安全提供数据支持。

参考文献

[1] Couch BC, Hohn LM. A multilocus gene genealogy concordant with host preference indicates segregation of a new species, *Magnaportheorizae*, from *M. Grisea* [J]. *Mycologia*, 2002, 94(4): 683–693.

[2] 刘怀阿, 许义彬, 禹登凤, 等. 36%丙环唑·咪鲜胺悬浮剂对稻瘟病的防治效果[J]. *江苏农业科学*, 2014, 42(12): 160–162.

Liu HA, Xue YS, Yu DF, *et al.* Control effect of 36% propiconazole and prochloraz on rice blast [J]. *Jiangsu Agric Sci*, 2014, 42(12): 160–162.

[3] 郭晓莉, 刘晓梅, 高德泉, 等. 水稻稻瘟病防治技术研究[J]. *吉林农业科学*, 2010, 35(6): 40–42.

Guo XL, Liu XM, Gao DQ, *et al.* Studies on technology of prevention and control of rice blast [J]. *Jilin Agric Sci*, 2010, 35(6): 40–42.

[4] 成卓敏. 新编植物医生手册[M]. 北京: 化学工业出版社, 2008.

Cheng ZM. *New manual of plant doctor* [M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2008.

[5] 柳训才, 陈平, 程运斌, 等. 油菜体内及土壤中咪鲜胺的残留检测与消解动态[J]. *中国油料作物学报*, 2006, 28(3): 354–357.

Liu XC, Chen P, Cheng YB, *et al.* Study on residue detection and degradation of prochloraz in rapeseed and soil [J]. *Chin J Oil Crop Sci*, 2006, 28(3): 354–357.

[6] 韩丽君, 钱传范, 江才鑫, 等. 咪鲜胺及其代谢物在水稻中的残留检测方法 & 残留动态[J]. *农药学报*, 2005, 7(1): 54–58.

Han LJ, Qian CF, Jiang CX, *et al.* Residue detection and degradation of prochloraz and its metabolites in rice [J]. *Chin J Pestic Sci*, 2005, 7(1): 54–58.

[7] 谭红, 郭正元, 周验旭, 等. 气相色谱法同时测定稻田中稻瘟酰胺和咪

- 鲜胺残留[J]. 环境监测管理与技术, 2015, 27(1): 42–45.
- Tan H, Guo ZY, Zhou YX, *et al.* Simultaneous determination of fenoxanil and prochloraz residue in paddy field by GC [J]. Admin Tech Environ Monitor, 2015, 27(1): 42–45.
- [8] 汪传刚, 龚道新, 邹雅竹, 等. HPLC 法检测咪鲜胺及其主要代谢物在稻田水土中的残留[J]. 农业环境科学学报, 2006, 25(4): 1024–1028.
- Wang CG, Gong DX, Zou YZ, *et al.* Residue determination of prochloraz and its major metabolites by HPLC in paddy water and soil [J]. J Agro-Environ Sci, 2006, 25(4): 1024–1028.
- [9] 柳训才, 沈敏, 李胜清, 等. 咪鲜胺及其代谢产物 2, 4, 6-三氯苯酚在蘑菇及土壤中的残留动态[J]. 农药学学报, 2009, 11(3): 362–366.
- Liu XC, Shen M, Li SQ, *et al.* Residue dynamics of prochloraz and its metabolite 2, 4, 6-trichlorophenol in mushroom and soil [J]. Chin J Pestic Sci, 2009, 11(3): 362–366.
- [10] 张世瑞, 袁宏球, 尹桂豪. 两种热带水果中咪鲜胺残留的气质联用测定[J]. 现代农药, 2010, 9(4): 32–34.
- Zhang SR, Yuan HQ, Yin GH. Determination of prochloraz in two kinds of tropical fruits by GC–MS [J]. Mod Agrochem, 2010, 9(4): 32–34.
- [11] 卢俊文, 李蓉, 杨芳, 等. 气相色谱–串联质谱法快速测定水果中咪鲜胺及其代谢物 2, 4, 6-三氯苯酚的残留量[J]. 食品科学, 2015, 36(12): 213–217.
- Lu JW, Li R, Yang F. Rapid determination of residues of prochloraz and its metabolite 2, 4, 6-Trichlorophenol in fruits using gas chromatography with tandem mass spectrometry [J]. Food Sci, 2015, 36(12): 213–217.
- [12] 程莉, 董丰收, 刘新刚, 等. QuEChERS-超高效液相色谱–串联质谱方法快速测定小麦中的咪鲜胺残留[J]. 农药学学报, 2009, 11(3): 357–361.
- Cheng L, Dong FS, Liu XG, *et al.* Simplified method for determination of fungicide prochloraz residues in wheat using QuEChERS and UPLC–MS/MS [J]. Chin J Pestic Sci, 2009, 11(3): 357–361.
- [13] Hill A. Quality control procedures for pesticide residues guidelines for residues monitoring in the European Union. (2nd Edition Document No. SANCO/3103/2000)[Z]. European Commission, 2000.
- [14] 杨洋, 刘一平, 肖璐璐, 等. 咪鲜胺在水稻田中的残留及消解动态研究[J]. 广东化工, 2018, 45(22): 4–5.
- Yang Y, Liu YP, Xiao LL, *et al.* Residues and dissipation dynamics of prochloraz in rice field [J]. Guangdong Chem, 2018, 45(22): 4–5.
- [15] 龚道新, 汪传刚, 邹雅竹, 等. 咪鲜胺及其三种主要代谢物在六种水稻土中的吸附[J]. 土壤学报, 2007, 44(1): 90–97.
- Gong DX, Wang CG, Zou YZ, *et al.* Adsorption of prochloraz and its major metabolites in paddy soils [J]. Acta Pedol Sinica, 2007, 44(1): 90–97.
- [16] 乔琳, 侯红敏, 朱爱东, 等. 咪鲜胺在小麦田中的残留消解与膳食风险评估[J]. 现代农药, 2015, 14(3): 43–46.
- Qiao L, Hou HM, Zhu AD, *et al.* Residual dynamics of prochloraz in wheat field and the assessment of dietary safety risk [J]. Mod Agrochem, 2015, 14(3): 43–46.
- [17] GB/T 2763–2019 食品安全国家标准 食品中农药最大残留限量[S].
- GB/T 2763–2019 National food safety standard—Maximum residue limits for pesticides in food [S].

(责任编辑: 王 欣)

作者简介



何玉玲, 高级农艺师, 主要研究方向为农产品质量安全风险评估, 大型仪器分析和实验室计量认证。

E-mail: heyuling1069@sina.com