

LC-MS-MS法检测小麦粉中12种农药的残留

沈燕¹, 刘贤进¹, 徐敦明², 孙星¹

(1.江苏省农业科学院 江苏省农产品安全性研究重点实验室,农业部食品安全监控重点开放实验室,南京 210014;
2.厦门出入境检验检疫局,福建 厦门 361001)

摘要: [目的]建立吡蚜酮、氧乐果、敌百虫、啶虫脒、乐果、甲磺隆、氯磺隆、多效唑、啉菌环胺、烯唑醇、啶硫磷、甲氨基阿维菌素苯甲酸盐12种农药在小麦中的液相色谱-三重串联质谱同时检测和确证方法。 [方法]小麦样品经粉碎后,0.1%(体积分数)冰醋酸-乙腈提取, NH₂氨基柱填料和石墨化炭黑固相分散净化,含0.1%甲酸的乙腈水混合液定容过微孔滤膜后用液相色谱串联四级杆质谱联用仪LC-MS-MS检测和确证。 [结果]方法在10~1000 μg/L范围内保持良好的线性关系,相关系数大于0.99。12种农药在10、50、100 μg/kg添加水平的回收率和相对标准偏差的数据表明:12种农药的回收率均为72%~107%,RSD为1.5%~13.3%,回收率和相对标准偏差达到相应标准的要求。 [结论]该方法快速、灵敏、适用广泛、操作简便及污染小,适用于小麦籽粒中农药残留的定性定量分析。

关键词: 三重串联四级杆;小麦;农药;残留

中图分类号:TQ450.2 文献标志码:A 文章编号:1006-0413(2011)11-0831-03

Multi-residue Determination of Twelve Pesticides by LC-MS-MS in Wheat

SHEN Yan¹, LIU Xian-jin¹, XU Dun-ming², SUN Xing¹

(1.Jiangsu Key Lab of Agricultural Food Safety, Jiangsu Academy of Agricultural Science, Key laboratory of Food Safety Monitoring and Management of Ministry of Agriculture, Nanjing 210014, China; 2.Xiamen Import & Export Inspection and Quarantine Bureau, Xiamen 361001, Fujian, China)

Abstract: [Aims] The LC-MS-MS (liquid chromatography tandem triple quadrupole mass spectrometry) method for determination of twelve pesticides (pymetrozine, omethoate, trichlorphon, acetamiprid, dimethoate, metsulfuron-methyl, chlorsulfuron, paclobutrazol, cyprodinil, diniconazole, quinalphos, emamectin-benzoate) was developed.

[Methods] Wheat samples were extracted with 0.1% HAc-acetonitrile after smashed, then the extraction was cleaned by NH₂ and graphite carbon. The solution was filtered with a membrane before injected into the instrument. [Results] For the above method, the linear scope was 10-1000 μg/L. Linear correlation coefficients was over 0.99. The range of the recoveries was 72-107%, the range of RSD was 1.5-13.3%, in the three levels of 10, 50, 100 μg/kg for 12 pesticides.

[Conclusions] These results showed that the method was fast, sensitive, convenient and widely available with less pollution and suitable for the determination of pesticides in wheat.

Key words: quadrupole mass spectrometry; wheat; pesticides; residue

小麦的整个生长周期中可能会遭受各种病虫害的侵袭。在小麦的进出口中,世界各主要农业大国都对小麦的农药残留制定了严格的限量标准。研究小麦中农药残留的检测方法既是保障人类健康的需要,又是促进进出口贸易的需要。

目前对农药检测方法的研究包括气相色谱、液相色谱和各种色质联用仪^[1-6]。但开发液质联用方法^[5-6]检测小麦籽粒中农药多残留,不仅可以在简化前处理过程的同时减少大量杂质峰的干扰,而且可以利用特征离子的优势进行多残留检测,特别是保留时间和特征离子可以双重定性,既提高方法的检测效率又提高方法的准确性。本文以农田常用的十几种农药在小麦中的残留量的检测为研究对象,建立小麦中农药的多残留液相色谱三重串联四级杆质谱

(Liquid Chromatography tandem Mass Spectrometry, LC-MS-MS)检测方法。该方法的关键是找出各种农药合适的母离子和子离子,并确定定量离子,在简化前处理的同时,又能保护仪器,达到整个方法的高效、准确、灵敏。

1 材料与方法

1.1 仪器和试剂

安捷伦Agilent Technologies 1200 SL Series液相,包括G1379B脱气机、G1312B二元泵、G1367C自动进样器、G1315C二极管阵列检测器。质谱部分包括6410A三重串联四级杆质谱LC/MS,配置G1948B ESI源。

甲醇、乙腈等均为色谱纯购自德国Merck公司。色谱纯甲酸购自美国TEDIA公司。水为Milli-Q-18的超纯水。

收稿日期:2011-07-21;修返日期:2011-09-05

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30871658);江苏省农业科技自主创新资金(CX(11)4066)

作者简介:沈燕(1980—),女,江苏泰州人,博士研究生,研究方向为食品安全。Tel:025-84390401, E-mail:shypaper@163.com。

1.2 溶液配制

农药标准品:吡蚜酮(pymetrozine, $\geq 99.5\%$)、氧乐果(omethoate, $\geq 98\%$)、敌百虫(trichlorphon, $\geq 99\%$)、啶虫脒(acetamiprid, $\geq 98.1\%$)、乐果(dimethoate, $\geq 98\%$)、甲磺隆(metsulfuron-methyl, $\geq 99.5\%$)、氯磺隆(chlorsulfuron, $\geq 99.8\%$)、多效唑(paclbutrazol, $\geq 99.3\%$)、啉菌环胺(cyprodinil, $\geq 99\%$)、烯啶醇(diniconazole, $\geq 98\%$)、啉硫磷(quinalphos, $\geq 96\%$)和甲基阿维菌素苯甲酸盐(emamectin-benzoate, $\geq 90\%$)均购自农业部环境保护科研检测所,标准品保存于 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的冰箱中。用乙腈配制农药各自单标 1000 mg/L ,储存于冰箱中备用。

1.3 样品前处理

将小麦籽粒用粉碎机粉碎制得全麦粉,称取 5.00 g (精确到 0.1 g)全麦粉样品于 50 mL 离心管中,加入 0.1% (体积分数)冰醋酸-乙腈 20 mL ,盖上离心管盖,漩涡混匀,超声 10 min ,振荡提取 2 h 。加入 3 g 无水硫酸镁和 1 g 无水乙酸钠,漩涡混匀。 4000 r/min 离心 5 min ,取出上清液, $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ 水浴氮气吹干。加入 0.1% 甲酸甲醇 0.5 mL ,漩涡 30 s ,加入 0.1% 甲酸的超纯水 0.5 mL ,漩涡 30 s ,加入 NH_2 氨基柱填料 0.04 g 和 20 mg 石墨化炭黑,漩涡混匀,过 $0.45\text{ }\mu\text{m}$ 的滤膜到进样小瓶中,供液质测定。

1.4 色谱、质谱条件与工作指标

色谱条件:色谱柱为ZORBAX SB-C₁₈ Narrow-Bore $2.1\text{ mm} \times 150\text{ mm}$ 5-Micron,柱前使用 1 cm 长C₁₈预柱,流动相为乙腈-水-甲酸(体积比 $50:50:0.1$,水每日更新),流速为 0.4 mL/min ,进样量 $5\text{ }\mu\text{L}$ 。

质谱条件:电喷雾ESI源,雾化气为氮气,压力为 172 kPa ;干燥气为氮气,流速为 10 L/min ,温度为 $350\text{ }^{\circ}\text{C}$;Vcap为 4000 V ;质谱为MRM模式,碰撞气为高纯氮气,根据具体农药分子特性确定毛细管出口电压和碰撞能量(见表1)。

表1 12种农药优化的仪器参数

农药	保留时间/min	离子对 ^{m/z}	传输区电压/V	碰撞能量/V
吡蚜酮	1.24	218.2/105.1, 218.2/78.1	130	17/49
氧乐果	1.29	214.2/125.1, 214.2/155.1	100	20/30
敌百虫	1.48	257.1/109.1, 257.1/221.0	90	13/5
啶虫脒	1.65	223.2/126.1, 223.2/90.1	110	17/33
乐果	1.65	230.2/199.0, 230.2/125.0	90	5/17
甲磺隆	2.04	382.2/167.1, 382.2/141.1	110	9/13
氯磺隆	2.25	358.2/141.1, 358.2/167.1	110	13/13
多效唑	3.50	294.3/70.1, 294.3/125.1	130	17/41
啉菌环胺	4.13	226.3/93.1, 226.3/77.1	170	37/49
烯啶醇	6.63	326.2/70.1, 326.2/159.0	150	25/33
啉硫磷	8.00	299.2/119.1, 299.2/147.1	130	45/21
甲基阿维菌素苯甲酸盐	9.25	886.7/157.9, 886.7/125.8	170	35/35

注:1)该列第1个离子对为定量离子对。

1.5 标准曲线与线性范围

用空白样品提取液配制各农药系列质量浓度在 $10\sim 1000\text{ }\mu\text{g/L}$ 范围内做标准曲线。将测得的质量浓度和峰面积作直线回归,求曲线回归方程和相关系数。

1.6 回收率与变异系数的测定

把各农药标准储备液的标准工作液加入 5 g 小麦粉空白中,制得对应质量分数分别为 10 、 50 、 $100\text{ }\mu\text{g/kg}$ 的3个添加水平,放置 1 h ,按照1.3和1.4过程进行,共重复9次。以峰面积定量,求回收率和变异系数。

2 结果与分析

2.1 前处理

文献[1-2]表明:在使用紫外检测器、电子捕获检测器、氮磷检测器或火焰光度检测器等分析样品时,为了排除杂质峰对目标峰的干扰,前处理去除杂质是关键的工作。对杂质峰去除的效果是评价前处理方法优劣的重要标准之一。因此,前处理中大量应用液液分配、固相萃取等技术。但用三重串联四级杆质谱检测分析样品时,无须考虑杂质峰的干扰,只是出于避免对仪器系统的污染和基质效应等角度出发对样品适当净化。本试验在样品杂质不是很多的情况下(比如色素含量少等),没有采用传统的SPE柱淋洗的过程,而是参考柳茵等^[6]的方法,采用进仪器前加入少量 NH_2 氨基柱填料和石墨化炭黑,漩涡混匀的固相分散萃取的方法,前处理净化过程简单,毒性有机溶剂使用量少,不仅节约了成本又保护了环境和实验操作者的健康。为进一步确保由于简单提取而可能导致的无色杂质对质谱的污染,本实验在液相部分加入了一个C₁₈的预柱,并且每进100个样品左右更换新的预柱,以维护质谱的干净同时提高工作效率。并且为了目标分析物在质谱的电喷雾ESI离子源部分能较好的离子化,前处理部分采用含 0.1% 甲酸的乙腈水的混合溶剂定容,以增加加氢峰的可能。

2.2 仪器条件的选择

实验中液相的流速为 0.4 mL/min ,50%的含水量,所以质谱部分的干燥气温度设定为 $350\text{ }^{\circ}\text{C}$,流速 10 L/min ,目的是为了更好的雾化。12种农药采用24对母离子和子离子的碰撞过程,每个碰撞过程分配 20 ms ,没有采用分段扫描方式,主要是为了防止保留时间漂移导致质谱部分不能准确定量可能的发生。

试验中,使用Agilent Optimizer软件进行各农药分子质谱部分参数的优化,比传统的流动注射泵的优化或手动优化方式,快速准确,效率明显提高。但使用Agilent Optimizer优化软件优化甲维盐农药时,未能得出合理结果,最后采用手动优化结果。

结果显示空白样品MRM图(见图1)基本没有基质干扰峰出现,添加农药样品MRM色谱图中共显示有12个峰。

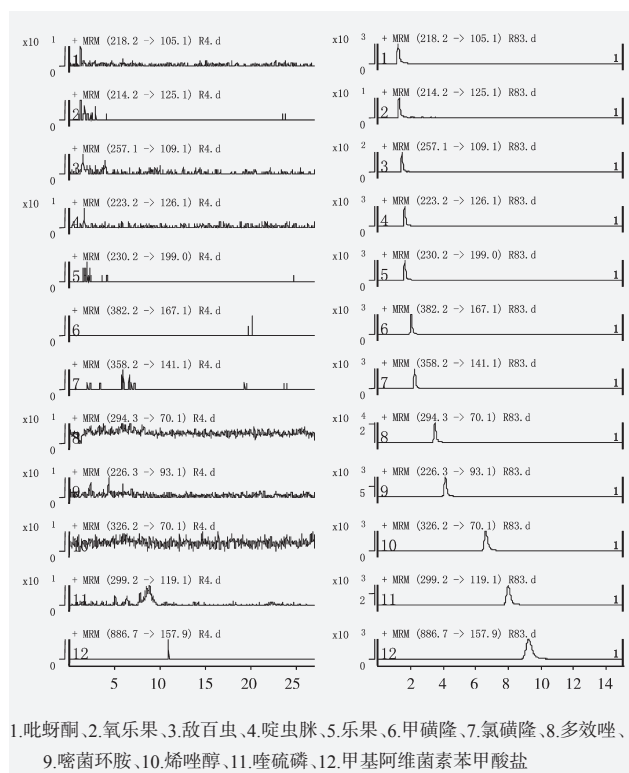


图1 小麦空白样品和添加农药样品液质联用仪多反应检测MRM色谱图

2.3 标准曲线、检测限与回收率

农药标样采用基质匹配法,削弱了基质效应的影响。各农药的标准曲线结果(见表2)显示12种农药在10~1 000 $\mu\text{g/L}$ 的范围内呈良好的线性相关, $r^2 > 0.99$ 。

表2 农药标准曲线方程、检测限和回收率

农药	线性方程($y=$)	r^2	LOD/ ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	LOQ/ ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	回收率/ %	RSD/ %
吡蚜酮	$51.372x-214.090$	0.998 1	2	10	91~98	1.5~8.7
氧乐果	$18.313x+152.751$	0.994 1	3	10	87~95	3.3~7.5
敌百虫	$8.590x-1.866$	0.993 1	4	10	95~102	4.2~7.3
啶虫脒	$22.975x+84.953$	0.998 5	2	10	87~93	1.7~6.0
乐果	$20.911x-3.696$	0.998 8	2	10	88~92	2.2~7.9
甲磺隆	$22.198x-4.490$	0.999 6	2	10	98~107	8.4~9.2
氯磺隆	$21.852x+85.520$	0.998 8	2	10	76~84	7.1~12.5
多效唑	$137.040x+1060.382$	0.997 4	1.5	10	85~91	5.5~13.3
啉菌环胺	$202.634x+2337.541$	0.996 3	1.5	10	72~88	4.3~11.2
烯唑醇	$68.602x+626.327$	0.996 6	2	10	95~103	3.5~7.9
啶硫磷	$47.204x+346.085$	0.998 6	2	10	92~98	2.1~6.4
甲基阿维菌素苯甲酸盐	$88.130x+1021.450$	0.991 6	2	10	82~90	1.7~12.9

12种农药在10、50、100 $\mu\text{g/kg}$ 添加水平的回收率和相对标准偏差的数据表明12种农药的回收率为72%~107%, RSD为1.5%~13.3%,回收率和相对标准偏差符合相应标准的要求。方法的最低检测限LOD范围在1.5~4 $\mu\text{g/kg}$ 之间, LOQ为10 $\mu\text{g/kg}$ 。

2.4 实际样品的测定

本方法应用于12批田间小麦采集样品的检测,其中仅一批样品中有一个样品有乐果检出,虽然可以积分显示含量为7.2 $\mu\text{g/kg}$,高于方法的LOD,但却低于方法的LOQ,并且低于相应MRL限量值。总体检测结果一定程度上说明调查地区小麦农业生产中农药科学使用现状良好。

参考文献:

- [1] 庄无忌,周昱. 毛细管色谱法测定果蔬中22种有机磷农药残留量[J]. 分析测试学报, 1995, 14(3): 68-71.
- [2] 汪雨,支辛辛,张玲金. 利用碳纳米管固相萃取气相色谱法对水中有机氯农药和多氯联苯的测定[J]. 分析测试学报, 2008, 27(5): 493-496.
- [3] 贺小雨,陈树兵,俞雪钧,等. 冷冻去脂-固相萃取/气相色谱-质谱法对水产品中禾草丹、溴氰菊酯及19种有机氯农药残留的测定[J]. 分析测试学报, 2009, 28(3): 306-309.
- [4] 郭岚,谢明勇,鄢爱平,等. GPC-GC-MS对食用植物油中多种类型农药残留的同时测定[J]. 分析测试学报, 2009, 28(1): 67-71.
- [5] 徐远金,李永库. 液相色谱-电喷雾质谱联用法测定蔬菜中7种有机磷农药残留量[J]. 分析测试学报, 2006, 25(4): 36-40.
- [6] 柳茵,徐锦忠,丁涛,等. 蔬菜中26种农药残留的高效液相色谱-串联质谱法测定[J]. 分析测试学报, 2009, 28(2): 181-185.

责任编辑:李新

(上接第830页)

- [11] 马广源,刘颖超,庞民好,等. 高效液相色谱法测定抗蚜威在小麦籽粒中的残留[J]. 农药, 2007, 46(6): 405-406.
- [12] 孙磊,金红宇,田金,等. 凝胶渗透色谱-柱后衍生高效液相色谱法测定中药材中13种N-甲基氨基甲酸酯类农药残留[J]. 药物分析杂志, 2010, 30(4): 668-672.
- [13] 徐远金,李永库. 中药材中氨基甲酸酯类农药的高效液相色谱-质谱分析[J]. 理化检验-化学分册, 2006, 42: 877-880, 884.
- [14] 万益群,毛雪金,鄢爱平. 微波辅助提取气相色谱法同时测定中草药中有机磷和氨基甲酸酯类农药残留[J]. 分析科学学报, 2009, 25(5): 537-541.
- [15] 刘宏程,杨光宇,马雪涛,等. 测定中药材中氨基甲酸酯类杀虫剂残留的高效液相色谱柱后衍生法[J]. 药物分析杂志, 2006, 26(6): 857-859.
- [16] 万益群,毛雪金,鄢爱平. GC-NPD同时测定中草药中有机磷和氨基甲酸酯类农药残留[J]. 分析实验室, 2009, 28(7): 34-37.

责任编辑:李新