

多重吸附同步净化-气相色谱-质谱法测定干性样品中 丁烯氟虫腈的残留量

丁立平*, 郭菁, 郑铃, 陈春添, 陈志涛

(福清出入境检验检疫局, 福建 福清 350300)

摘要:建立了干性样品中丁烯氟虫腈残留量的多重吸附同步净化(MASP)-气相色谱-质谱检测方法。前处理以1%乙酸-乙腈提取样品,应用MASP法对样品同时进行提取、盐析和净化,并利用气相色谱-质谱仪在选择离子扫描(SIM)模式下进行检测,以基质匹配标准溶液外标法定量。结果表明:丁烯氟虫腈在2~100 $\mu\text{g}/\text{L}$ 范围内线性关系良好,相关系数(r^2)不小于0.999;在2~10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 添加水平范围内,丁烯氟虫腈的平均回收率为92.2%~97.5%,相对标准偏差(RSD, $n=6$)为2.69%~5.21%;方法检出限($S/N=3$)为2 $\mu\text{g}/\text{kg}$;定量限($S/N=10$)为6 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。本方法操作简便、快速、准确,可用于干性样品中丁烯氟虫腈的日常检测。同时,对丁烯氟虫腈的裂解机理进行了探讨。

关键词:多重吸附同步净化(MASP);气相色谱-质谱;丁烯氟虫腈;残留量;干性样品

中图分类号:O658 文献标识码:A 文章编号:1000-8713(2013)08-0747-06

Determination of butene-fipronil residue in dry samples by multiple adsorption synchronous purification-gas chromatography-mass spectrometry

DING Liping*, GUO Jing, ZHENG Ling, CHEN Chuntian, CHEN Zhitao

(Fuqing Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Fuqing 350300, China)

Abstract: A method was developed for the determination of butene-fipronil residue in dry samples by multiple adsorption synchronous purification (MASP)-gas chromatography (GC)-mass spectrometry (MS). After extracted with 1% acetic acid-acetonitrile, the samples were pretreated with MASP method including extraction, salting-out and purification procedures, and analyzed with GC-MS under the selected ion monitoring (SIM) mode, and then quantified by matrix-match standard solution with external standard method. The results showed good linearity in the range of 2–100 $\mu\text{g}/\text{L}$ with the correlation coefficients (r^2) not less than 0.999. The average fortified recovery of butene-fipronil in samples was found in the range of 92.2%–97.5% at three fortified levels from 2 to 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$, with the relative standard deviations of 2.69%–5.21% ($n=6$). The limit of detection ($S/N=3$) for butane-fipronil was 2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ and the limit of quantification ($S/N=10$) was 6 $\mu\text{g}/\text{kg}$. The method is simple, rapid and accurate, and could be used for the routine analysis of butane-fipronil in dry samples. Meanwhile, the pyrolysis mechanism of butane-fipronil, as a new substance, is discussed.

Key words: multiple adsorption synchronous purification (MASP); gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS); butene-fipronil; residue; dry samples

丁烯氟虫腈是大连瑞泽农药股份有限公司基于
氟虫腈结构特点创制的1-位取代苯基含氟吡唑类

新型杀虫剂,具有完全自主知识产权,获得了国内与
国际专利,对菜青虫、小菜蛾、螟虫、褐飞虱、叶甲等

* 通讯联系人. Tel: (0591) 62837267, E-mail: 43548624@qq.com.

基金项目: 福建出入境检验检疫局项目(FK2011-61).

收稿日期: 2013-01-17

多种害虫具有较高的活性^[1-3]。当前,针对苯基含氟吡唑类杀虫剂的检测方法主要有气相色谱法、液相色谱法和气相色谱-质谱联用法^[4-14],这些报道的研究方法使用传统的固相萃取、固液萃取等前处理手段,结合应用气相色谱、液相色谱和气相色谱-质谱仪实现了对苯基含氟吡唑类杀虫剂的检测,具有一定的参考价值。

2003 年, Anastassiades 等^[15] 开发报道了 QuEChERS 方法,该方法简化了繁杂的前处理步骤并扩大了农药残留的萃取范围,成为食品中农药残留分析方法常用的一种选择。最初该方法仅用于水果和蔬菜等含水量较多的样品中农药残留的分析,但随着研究的不断深入该方法在其他食品如茶叶、肉类、菇类中也得到应用^[16-18]。

当前报道的 QuEChERS 方法是在对样品提取完成后再进行净化,实验过程分提取和净化两个步骤^[19-21]。本研究在结合 QuEChERS 法和基质分散固相萃取法的基础上对 QuEChERS 方法进行了改进,提出了多重吸附同步净化的概念——MASP (multiple adsorption synchronous purification),即将具有吸水作用的无水硫酸镁、盐析作用的乙酸钠与净化吸附作用的 *N*-丙基乙二胺、硅胶、 C_{18} 、中性氧化铝、佛罗里硅土、石墨化炭黑(GCB)等填料以适当的组成和比例混合后加入到样品中,配合适当的提取溶剂和提取方法对样品进行前处理,以期达到对样品中目标分析物提取、盐析和净化同步完成的目的。MASP 方法的核心理念就是利用不同净化吸附剂有不同的吸附机理和各自适用的吸附目标物的特点,将不同种类的净化吸附剂以适当比例进行组合优化,实现提取、盐析、净化同步完成并取得最佳净化效果。

经本研究探索建立的多重吸附机制同步净化前处理方法,对目标物的提取和净化可以同步完成,同时结合使用气相色谱-质谱对样品中的丁烯氟虫腈进行定性和定量分析,实现了快速、便宜、简单、有效、安全的分析目标。此外,本研究对新型杀虫剂丁烯氟虫腈的裂解机理进行了探讨,对其残留量检测所需定性和定量离子的选择作了充分的说明。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

Agilent 6890N-5975B 气相色谱-质谱联用仪,美国 Agilent 公司;IKA T-25 高速分散器,德国 IKA 公司;RV10 旋转蒸发仪,德国 IKA 公司;ZM200 超离心研磨仪,德国 Retsch 公司。

甲醇、乙腈(色谱纯),德国默克公司;乙酸、丙酮、正己烷、乙酸钠、氯化钠、无水硫酸镁、无水硫酸钠(分析纯),国药集团;佛罗里硅土、硅胶、中性氧化铝、GCB、*N*-丙基乙二胺(PSA)、 C_{18} 吸附剂(分析纯),天津 Agela Technologies。

1%乙酸-乙腈的配制:量取 10.0 mL 乙酸加入到 1 000 mL 容量瓶中,以乙腈定容并摇匀;盐析剂:无水硫酸镁和无水乙酸钠按照质量比 4:1 混合;净化剂 I:无水硫酸镁、乙酸钠、PSA、 C_{18} 和 GCB 按照质量比 6:1:2:2:2 混合;净化剂 II:无水硫酸镁、乙酸钠、硅胶和 GCB 按照质量比 9:1:9:1 混合;净化剂 III:无水硫酸镁、乙酸钠、中性氧化铝和 GCB 按照质量比 9:1:9:1 混合。丁烯氟虫腈原药(纯度 > 96.0%,大连瑞泽农药股份有限公司)。

1.2 测试条件

气相色谱条件:色谱柱为 DB-5 MS 毛细管(30 m × 0.25 mm × 0.25 μm);载气为高纯氦气(99.999%);恒流模式,柱流速 1.1 mL/min;进样量 1 μL,不分流进样;进样口温度 270 °C;柱温升温程序:初始温度 70 °C,保持 1 min,以 25 °C/min 升至 220 °C,保持 6 min,后运行温度 280 °C,保持 6 min 以去除色谱柱中残留杂质。

质谱条件:电子轰击离子源(EI 源),电子轰击能量 70 eV,单四极质量分析器;离子源温度 230 °C;四极杆温度 150 °C;传输线温度 280 °C;全扫描(SCAN)模式:扫描范围 m/z 50~500,确定待测化合物的扫描离子、保留时间和检查有无基质干扰;溶剂延迟 9 min;选择离子模式(SIM):丁烯氟虫腈定量离子 m/z 403,定性离子 m/z 421、372、213;驻留时间:80 ms。

1.3 标准溶液配制

取适量丁烯氟虫腈用乙腈配成 1.0 mg/L 的标准储备液,于 -18 °C 冰箱中保存,使用前根据检测要求以空白基质提取液稀释成相应浓度的标准工作溶液。

1.4 样品处理

取红茶、烘干包菜和烘干芹菜样品各约 500 g 研磨粉碎后装入洁净的容器中密封备用,于 -18 °C 下冷藏保存。

称取样品 2.00 g 于 50 mL 具塞离心管中,加入饱和氯化钠溶液 2.0 mL,适当振荡后静置 15 min,之后依次加入 3.0 g 净化剂 III 和 1%乙酸-乙腈提取液 10.0 mL,以 10 000 r/min 的转速匀浆 1.0 min,另取 1%乙酸-乙腈 10.0 mL 清洗刀头,合并溶液,以 4 000 r/min 转速离心 5 min,将全部溶液倾入 50

mL 心形瓶中并在 40 °C 下旋转蒸发近干,加入 2.00 mL 1% 乙酸-乙腈定容,经 0.22 μm 滤膜过滤,待分析。

1.5 定量方法

取各质量浓度水平的基质匹配标准溶液,以峰面积和质量浓度绘制工作曲线。将处理后的样品溶液进行分析,以选择离子扫描(SIM)采集数据,外标法测定样品中丁烯氟虫腈残留量。

2 结果与讨论

2.1 特征碎片离子的选择和裂解机理的探讨

取丁烯氟虫腈标准液(1.00 mg/L)在 m/z 50~500 质量范围内进行全扫描,其总离子流色谱图和质谱图见图 1。

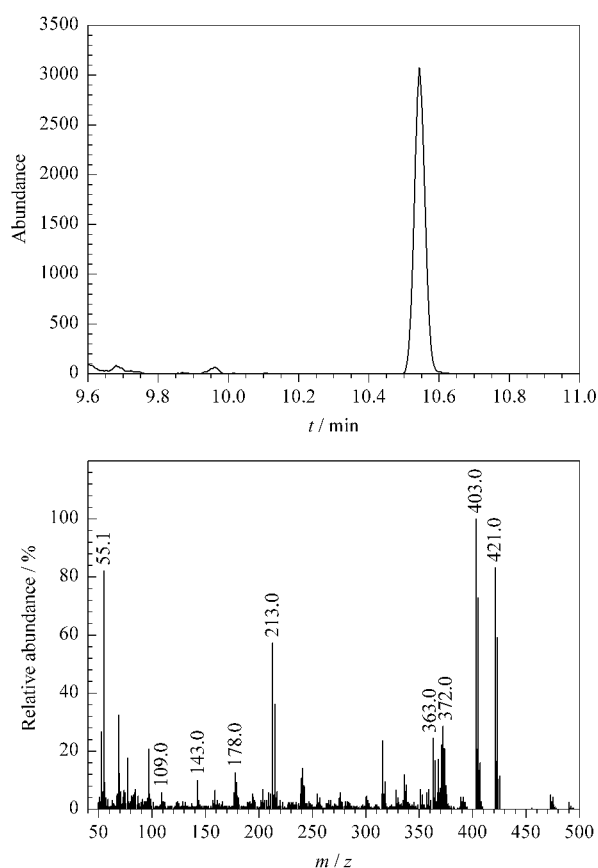


图 1 丁烯氟虫腈标准的总离子流色谱图及质谱图
Fig. 1 Total ion chromatogram (TIC) and mass spectrum of butene-fipronil standard

由于丁烯氟虫腈分子中含有两个氯原子,其分子离子峰 m/z 490 理论上应有两个同位素峰 m/z 492、 m/z 494,此 3 个同位素峰经同样裂解途径应该产生对应的 3 个同位素峰簇。在质谱图高质量端未发现有明显分子离子峰,但质谱图上主要裂解离子簇 m/z 403、405、407, m/z 421、423、425 和 m/z 213、215、217 均以同位素峰簇形式呈现,由此可

以推断它们为分子离子峰及其同位素峰经过相同方式裂解的相应产物。

当丁烯氟虫腈分子氧原子上的 n 电子丢失时,产生奇电子离子,之后发生的裂解有 3 条途径。第一种途径为分子离子氢重排反应(rH)后经 i 断裂生成碎片离子 m/z 372;第二种途径为分子离子的游离基中心诱导发生 α 断裂产生碎片离子 m/z 421,该离子又经 i 断裂产生碎片离子 m/z 213;第三种途径为分子离子氢重排反应后经取代反应(rd)产生碎片离子 m/z 421,该离子共振后发生消去反应(re)产生碎片基峰离子 m/z 403。断裂过程及机理见图 2。由于在 m/z 低于 100 的低质量端碎片离子峰易受到进样溶剂、样品中的杂质和色谱柱的流失等因素干扰,不易判别,不作为定性和定量离子用,因此选择 m/z 403 作为定量离子,同时选择 m/z 421、372、213 作为定性离子。

2.2 前处理条件的优化

为了验证 MASP 方法的可行性并优化前处理条件,在 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 添加水平下进行回收试验,以基质复杂、色素含量较高的红茶为考察样品,在优选吸附剂种类并固定提取溶剂用量的前提下,综合考察以下 4 个因素:提取方法:振荡萃取 30 min、超声提取 15 min,高速匀浆提取 1 min;提取溶剂种类:1% 乙酸-乙腈、乙酸乙酯、正己烷/丙酮(2:1, v/v);净化剂种类:I、II、III;净化剂用量:1.0 g、2.0 g 和 3.0 g。设计正交试验方案以优化前处理条件^[22],其中每个试验均进行 3 个加标样品的测试,所得到的回收率结果见表 1。

表 1 丁烯氟虫腈的正交试验结果($n=3$)

Pretreatment conditions (①+②+③+④)	Added/ ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	Recovery/ %	RSD/ %
OE+1%AAA+I+A	10	88.7	2.8
OE+EA+II+B	10	82.3	2.7
OE+HA+III+C	10	74.8	3.2
UAE+1%AAA+II+B	10	85.4	3.1
UAE+EA+III+A	10	81.2	2.4
UAE+HA+I+C	10	78.9	2.8
HSHE+1%AAA+III+C	10	98.2	3.0
HSHE+EA+I+B	10	84.7	2.5
HSHE+HA+II+A	10	92.5	2.9

① Extraction method: OE, oscillation extraction; UAE, ultrasonic assisted extraction; HSHE, high-speed homogenate extraction. ② Extraction solvent: 1% AAA, 1% acetic acid-acetonitrile; EA, ethyl acetate; HA, hexane/acetone (1:1, v/v). ③ Purifying agent: I, $\text{MgSO}_4\text{-NaOAc-PSA-C}_{18}\text{-GCB}$ (mass ratio of 6:1:2:2:2); II, $\text{MgSO}_4\text{-NaOAc-silica gel-GCB}$ (mass ratio of 9:1:9:1); III, $\text{MgSO}_4\text{-NaOAc-neutral alumina-GCB}$ (mass ratio of 9:1:9:1). ④ Purifying agent dose: A, 1.0 g; B, 2.0 g; C, 3.0 g.

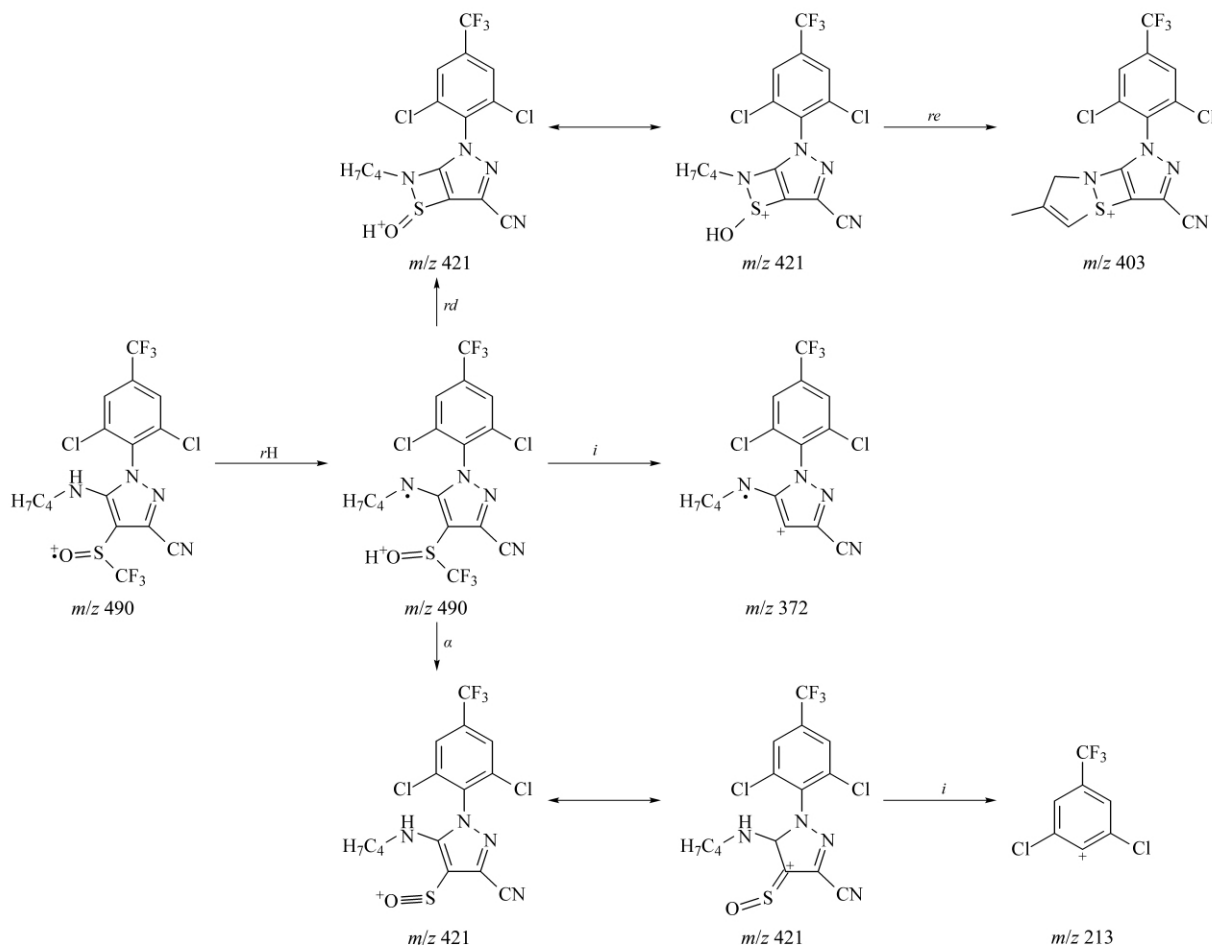


图 2 推断的丁烯氟虫腈特征碎片离子裂解机理
Fig. 2 Inferred cleavage mechanism of butene-fipronil characteristic fragment ions

对实验结果进行直观、极差和方差分析,综合比较提取效率,发现高速匀浆提取、1%乙酸-乙腈、净化剂Ⅲ和 3.0 g 净化剂的组合回收率相对较高,最后得到的定容液颜色清亮,有较好的净化效果。图 3 是在优化的前处理条件下加标样品净化后的总离子流图,从图 3 可见目标峰附近无杂质峰干扰,并且实现了基线分离,表明所确定的前处理条件有较好的分离和净化效果。

2.3 MASP 与 SPE、QuEChERS 的比较

为了综合考察 MASP 与传统的固相萃取(SPE)法和 QuEChERS 方法的前处理效果,依照 2.2 节中所确定的提取剂和净化剂种类,以烘干包菜为考察样品,在 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 添加水平下进行回收试验对 MASP 方法与固相萃取法(SPE)、QuEChERS 方法的前处理效果进行比较。其中固相萃取法的前处理条件为:加标样品参照 1.4 节的称量、提取和离心步骤进行处理,称取 1.0 g 净化剂Ⅲ 填充固相萃取小柱并将提取液浓缩后上样,用正己烷/丙酮(体积比 2:1)10 mL 洗脱,收集所有洗脱液浓缩并定容分析;

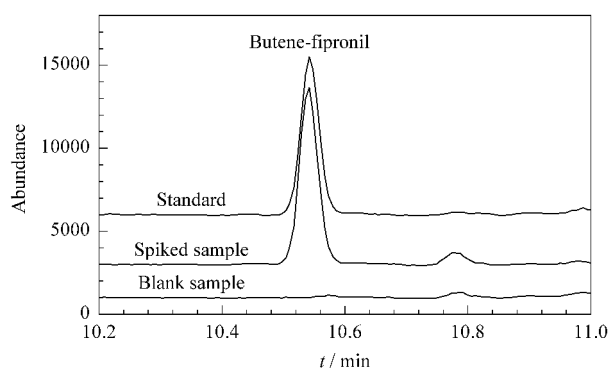


图 3 丁烯氟虫腈标准品、茶叶空白样品及加标样品的 TIC 图
Fig. 3 TIC chromatograms of butene-fipronil standard, blank sample and spiked sample of tea

QuEChERS 方法的前处理条件为:加标样品按 1.4 节所述的称量、提取(加入盐析剂 2.0 g,并加入 1%乙酸-乙腈提取液 10.0 mL)和离心步骤进行处理,在 5 mL 离心管中称取 0.5 g 的 MgSO_4 、PSA 和 GCB 混合物(质量比 3:2:1),加入 1.0 mL 提取液,涡旋离心后过滤分析。

试验结果如表 2 所示。从表 2 中可以看出,

SPE 方法与 MASP 方法回收率相近,均取得了较好的回收率效果,但相对而言 SPE 方法的前处理过程更加费时费溶剂;QuEChERS 方法与 MASP 方法相比,QuEChERS 方法回收率过高,表明其具有明显的基质增强效应。其原因可能是 QuEChERS 方法净化效果不佳,样品中的某些内源性物质电离所产生的离子碎片与待测物的碎片相同,从而产生增强效应;同时也可能是 QuEChERS 方法中仅吸取 1.0 mL 提取液用于净化,而净化的吸附剂用量通常为 0.3~0.5 g^[15-19],相对 1.0 mL 提取液而言吸附剂的量较大,吸附剂可能会选择性地吸附一定量的溶剂,客观上对提取液起到了浓缩作用,从而造成回收率的升高。当前,对于基质效应的原理尚不明确,消除方法也需要进一步研究。总体而言,与 SPE 方法和 QuEChERS 方法相比,MA SP 方法具有更高的样品前处理效率和无明显基质增强效应的特点。

表 2 3 种前处理方法的回收率试验结果 ($n=3$)Table 2 Results of recovery test of the three pretreatment methods ($n=3$)

Pretreatment method	Added/($\mu\text{g}/\text{kg}$)	Recovery/%	RSD/%
SPE	50	92.1	2.9
QuEChERS	50	126.8	3.2
MA SP	50	95.8	2.6

SPE: solid phase extraction; QuEChERS: quick, easy, cheap, effective, rugged and safe; MA SP: multiple adsorption synchronous purification.

2.4 线性范围、检出限与定量限

取一系列不同浓度的茶叶基质标准溶液,在本方法所确定的分析条件下进行分析,以峰面积(y)对丁烯氟虫腈的质量浓度(x , $\mu\text{g}/\text{L}$)进行线性回归。结果表明:丁烯氟虫腈在 2~100 $\mu\text{g}/\text{L}$ 范围内有良好的线性关系,丁烯氟虫腈的回归方程为 $y = 1296x - 765.9$,相关系数 $r^2 = 0.9999$ 。以样品加标回收的方式测定方法的检出限($S/N=3$)为 2 $\mu\text{g}/\text{kg}$,定量限($S/N=10$)为 6 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

2.5 回收率与精密度

分别称取空白红茶、烘干包菜和烘干芹菜样品,在检出限、定量限以及 5 倍检出限 3 个浓度水平进行加标,加标样品适当涡旋并振荡后放置于通风橱中老化 2 h 后制得浓度为 2、6、10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 的 3 个添加水平加标样品,每个水平 6 个平行样品,并按照 1.4 节和 1.5 节进行回收率和精密度试验,结果见表 3。

2.6 基质效应

由于质谱在电离和扫描过程中存在基质效应的影响,通常需采用基质匹配的标准溶液来补偿基质效应。为了考察基质效应的影响,取 50 $\mu\text{g}/\text{L}$ 的标

表 3 丁烯氟虫腈的回收率与相对标准偏差 ($n=6$)Table 3 Recoveries and RSDs of butene-fipronil ($n=6$)

Sample	Added/($\mu\text{g}/\text{kg}$)	Recovery/%	RSD/%
Black tea	2	92.2	4.8
	6	96.1	2.7
	10	97.1	2.9
Dry cabbage	2	92.3	5.2
	6	96.0	2.7
	10	97.5	2.8
Dry celery	2	91.8	4.8
	6	96.5	3.2
	10	97.8	2.7

准溶液配制基质标样,与同等浓度的溶剂标准溶液进行对比测定,依照公式 $\eta = (A_i)_{\text{基质标样}} / (A_i)_{\text{溶液标样}}$ (A_i 为丁烯氟虫腈的峰面积)计算基质效应^[23]。实验结果表明,3 种基质的 η 在 0.98~1.06 之间,数值接近 1,表明基质效应不明显,说明以上基质经过本方法净化后对质谱检测不产生显著影响。

3 结论

本研究以 1% 乙酸-乙腈为提取溶剂,以无水硫酸镁、乙酸钠、中性氧化铝和 GCB 混合物为净化剂,对样品中的目标化合物丁烯氟虫腈进行高速匀浆提取,实现了集提取、盐析和净化同步完成的多重吸附同步净化前处理目标,同时应用 GC-MS 对其进行检测,外标法定量,建立了干性样品中丁烯氟虫腈残留量的分析方法。此外,本文对丁烯氟虫腈的裂解机理进行了探讨,对检测过程中定性和定量离子的选择做了充分的说明。所建立的方法方便、快捷、可靠,对其他干性样品中丁烯氟虫腈的快速检测有借鉴作用。

参考文献:

- [1] Dalian RUIZE Pesticide Co., Ltd. World Pesticides (大连瑞泽农药股份有限公司. 世界农药), 2005, 27(5): 49
- [2] Niu H T, Luo W C, Jiang G Q, et al. Acta Phytophylacica Sinica (牛洪涛, 罗万春, 江改青, 等. 植物保护学报), 2007, 34(3): 316
- [3] Li Q, Du J X, Zhang L. China Plant Protection (李前, 杜建雄, 张龙. 中国植保导刊), 2007(11): 39
- [4] Ding L P. Analysis and Testing Technology and Instruments (丁立平. 分析测试技术与仪器), 2010, 16(3): 191
- [5] Ding L P. Analysis and Testing Technology and Instruments (丁立平. 分析测试技术与仪器), 2011, 17(3): 149
- [6] Feng D Q, Ouyang G P, Kong L H. Guangzhou Chemical Industry (冯道全, 欧阳贵平, 孔令华. 广州化工), 2009, 37(3): 8
- [7] Ding H Y, Xie W, Liu H S. Journal of Instrumental Analysis (丁慧瑛, 谢文, 刘海山. 分析测试学报), 2005, 24(5): 113
- [8] Cao H Q, Shi Y H, Hua R M, et al. Food Science (操海群, 施艳红, 花日茂, 等. 食品科学), 2005, 26(9): 377
- [9] Guo M, Zong L G, Shan Z J, et al. Journal of Agro-Environ-

- ment Science (郭敏, 宗良纲, 单正军, 等. 农业环境科学学报), 2008, 27(5): 2114
- [10] Wu Z P, Gao W, Yan C R, et al. Modern Agrochemicals (武中平, 高巍, 颜春荣, 等. 现代农药), 2006, 5(2): 21
- [11] Zhou Y, Xu D M, Chen D J, et al. Chinese Journal of Chromatography (周昱, 徐敦明, 陈达捷, 等. 色谱), 2011, 29(7): 656
- [12] Liu Y, Ji M S, Hu R, et al. Journal of Anhui Agriculture Science (刘郁, 纪明山, 胡睿, 等. 安徽农业科学), 2007, 35(18): 5344
- [13] Liu Y, Yu Y H, Bian Y Q, et al. World Pesticides (刘郁, 于亚辉, 边应权, 等. 世界农药), 2008, 30(5): 35
- [14] Cao W Q, Zhao H T, She Y X, et al. Journal of Instrumental Analysis (曹维强, 赵海田, 佘永新, 等. 分析测试学报), 2009, 28(9): 1096
- [15] Anastassiades M, Lehotay S J, Stajnbaher D, et al. J AOAC Int, 2003, 86(2): 412
- [16] Gong X M, Dong J, Sun J, et al. Journal of Instrumental Analysis (宫小明, 董静, 孙军, 等. 分析测试学报), 2010, 29(9): 933
- [17] Li C Y, Kong X H, He Q, et al. Food and Nutrition in China (李春艳, 孔祥虹, 何强, 等. 中国食物与营养), 2010(2): 57
- [18] Rawn D F K, Judge J, Roscoe V. Anal Bioanal Chem, 2010, 397: 2525
- [19] Forsberg N D, Wilson G R, Anderson K A. J Agric Food Chem, 2011, 59(15): 8108
- [20] Li X S, Jiang Y P, Shan W L, et al. Bull Environ Contam Toxicol, 2010, 84: 596
- [21] Lucini L, Molinari G P. J Chromatogr Sci, 2011, 49: 709
- [22] Ding L P, Wei Y H. Agrochemicals (丁立平, 魏云昊. 农药), 2011, 50(5): 352
- [23] Xu P J, Gao X S, Tao B, et al. Chinese Journal of Analytical Chemistry (许鹏军, 高晓莎, 陶晔, 等. 分析化学), 2008, 36(11): 1515