

超高效液相色谱-串联质谱法测定 茶叶和土壤中丁醚脲及其代谢物的残留

张新忠^{1,2,3} 罗逢健¹ 刘光明¹ 楼正云¹ 陈宗懋^{* 1}

¹(中国农业科学院茶叶研究所 农产品质量安全研究中心, 杭州 310008)

²(农业部茶及饮料植物产品加工与质量控制重点开放实验室, 杭州 310008)

³(浙江省茶叶加工工程重点实验室, 杭州 310008)

摘 要 建立了超高效液相色谱-串联质谱同时快速测定茶叶和土壤中丁醚脲及其代谢物残留量的方法。样品采用乙腈提取,加入乙酸铵和 NaCl 进行液液分配,PSA 结合 GCB 进行固相分散萃取除杂质,Waters Acquity UP-LC BEH C₁₈ 柱(100 mm×2.1 mm×1.7 μm) 分离,超高效液相色谱-串联质谱法测定。在 2.0~4000 μg/L 浓度范围内,不同基质中丁醚脲均有较好的线性关系($r > 0.99$),检出限为 0.5 μg/L;在 2.0~2000 μg/L 浓度范围内,不同基质中丁醚脲-脲均有较好的线性关系($r > 0.99$),检出限为 0.2 μg/L。在 0.02、0.20 和 4.00 mg/kg 添加水平下,除绿茶中的低浓度水平丁醚脲回收率较低(56.3%,64.1%) 外,其余均介于 70.8%~110.5% 之间,相对标准偏差介于 0.8%~14.4% 之间,方法定量限为丁醚脲 0.005 mg/kg、丁醚脲-脲 0.002 mg/kg。利用本方法对丁醚脲在茶园田间残留实验样品进行测定,获得了较好的效果,方法快速、简单,能够满足残留检测的需要。

关键词 超高效液相色谱-串联质谱; 茶叶; 丁醚脲及其代谢物

1 引 言

丁醚脲(1-Tert-butyl-3-(2,6-diisopropyl-4-phenoxyphenyl) thiourea) 是一种硫脲类化合物选择性杀虫和杀螨剂,具有内吸和熏蒸作用,广泛用于棉花、水果、蔬菜和茶树上,在紫外光下转变为具杀虫活性的物质丁醚脲-酰胺体(Tert-butyl-(2,6-diisopropyl-4-phenoxyphenyl)-carbodiimide),对氨基甲酸酯、有机磷和拟除虫菊酯类农药产生抗性的蚜虫、叶蝉、粉虱、蛾和螨类具有很好的杀灭效果。丁醚脲在光解、水解、环境微生物降解以及植物体内降解的主要产物为丁醚脲-酰胺体、丁醚脲-脲(1-Tert-butyl-3-(2,6-diisopropyl-4-phenoxyphenyl)-urea) 等^[1,2]。最新研究表明,丁醚脲对蜜蜂具有一定毒性^[3],丁醚脲代谢物比丁醚脲原药本身具有更高的毒性,因此 2002 年欧盟颁布的第 2076/2002 号法规规定对丁醚脲实行本地区内禁用、禁售^[4]。

目前,日本、澳大利亚等国家对茶叶中丁醚脲及其两种代谢物的最大残留限量总值定为 20 mg/kg,但是欧盟、美国等则规定不得检出;有关茶叶、土壤等样品中丁醚脲及其代谢物同时测定方法的未见报道。因此,有必要研究茶叶、土壤样品中丁醚脲及其代谢物残留的分析方法,满足食品和环境安全监控需要,保障茶叶饮用安全和环境安全。

超高效液相色谱-串联质谱法(UPLC-MS/MS) 测定,结合基质固相分散萃取技术净化,是一种同时具备高效率、高特异性和高灵敏度的普适性方法,广泛用于农药及环境污染物残留分析测定中^[5~7]。本研究通过向茶叶等样品中加入乙腈进行萃取,加入乙酸铵和 NaCl 进行液液分配,离心,乙腈层进行 PSA 和 GCB 分散固相萃取除杂质,采用超高效液相色谱-串联质谱基质外标法测定,建立了茶叶、土壤等基质中丁醚脲及其代谢物残留量同时测定方法,本方法快速、简便、可靠,能满足残留监控的需要。

2 实验部分

2.1 仪器与试剂

UPLC/Quattro Premier XE 超高效液相色谱-三重四级杆质谱联用仪,配有电喷雾电离(ESI) 源,

2010-11-27 收稿;2011-04-04 接受

本文系农业部茶及饮料植物产品加工与质量控制重点开放实验室项目(No. 2010K1006)、浙江省自然科学基金项目(No. Y3100259)和农业部农药检定所农药残留田间登记试验项目(No. 2009P593)资助

* E-mail: chenzm@mail.tricaas.com

MassLynx 4.1 质谱工作站软件(美国 Waters 公司);高速离心机(德国 Sigma 公司);0.22 μm Filter Unit 滤膜(天津博纳艾杰尔科技有限公司);高速万能粉碎机(浙江温岭市林大机械有限公司)。

乙腈、甲醇(色谱纯,德国 Merk 公司);乙酸铵、NaCl、无水 MgSO_4 (分析纯,上海四赫维化工有限公司);纯净水(杭州娃哈哈有限公司);*N*-丙基乙二胺(PSA)、强阳离子(SCX)、 C_{18} 封端、 C_{18} -N 不封端、氨基(NH_2)填料(天津博纳艾杰尔科技有限公司);STH-2 型石墨化炭黑(GCB,100~150 目(0.15~0.76 mm 粒径),吉林炭集团研究所)。丁醚脲和丁醚脲-脲标准品(99.0%,日本和光纯药 WAKO 工业株式会社)。

10 mmol/L 乙酸铵溶液:称取 0.78 g 乙酸铵,用纯净水溶解并定容至 1000 mL,当天配制现用。

2.2 色谱-质谱条件

Acquity UPLC BEH C_{18} 色谱柱(100 mm $\times$ 2.1 mm,1.7 μm);柱温:40 $^{\circ}\text{C}$;进样量:5 μL ;样品室温度:8 $^{\circ}\text{C}$;采用 10 mmol 乙酸铵溶液(A)和甲醇(B)组成的流动相进行梯度洗脱,洗脱程序:0~6.0 min,30%~1.0% A;6.0~8.0 min,1.0%~0.0% A;8.0~9.8 min,0.0% A;9.8~10.2 min,0.0%~30% A,保持 1.8 min。

电喷雾电离正离子模式,ESI⁺;多反应监测扫描(MRM);电喷雾电压:2.0 kV;离子源温度:120 $^{\circ}\text{C}$;脱溶剂气温度:300 $^{\circ}\text{C}$;锥孔反吹气流量: N_2 ,50 L/h;脱溶剂气流量: N_2 ,500 L/h;碰撞气:Ar,0.15 mL/min;倍增电压:650 V;二级质谱母离子驻留时间:0.400 s。其它参数见表 1。

表 1 丁醚脲及其代谢物残留测定的 ESI⁺-MS/MS 条件参数

Table 1 ESI⁺-MS/MS conditions for residue determination of diafenthuron and its metabolites

化合物 Compound	分子式 Molecular formula	保留时间 Retention time (min)	扫描时间段 Scan figment (min)	母离子 Parent ion (m/z)	子离子 Daughter ions (m/z ,%)	锥孔电压 Cone voltage (V)	碰撞能量 Collision energy (eV)
丁醚脲-甲酰胺 Diafenthuron- methanimidamide	$\text{C}_{23}\text{H}_{32}\text{N}_2\text{O}$	3.44	2.40~4.00	353.30	297.20 (100)*	28	20
					280.20 (20)	28	25
丁醚脲-脲 Diafenthuron-urea	$\text{C}_{23}\text{H}_{32}\text{N}_2\text{O}_2$	5.20	4.10~6.30	369.30	229.10 (100)*	28	28
					271.10 (65)	28	22
丁醚脲 Diafenthuron	$\text{C}_{23}\text{H}_{32}\text{N}_2\text{OS}$	5.67	4.15~6.50	385.30	329.20 (100)*	28	18
					278.10 (24)	28	32

*: 定量子离子 (Quantitative daughter ions)。

2.3 样品处理

取茶叶鲜叶(或成茶绿茶、红茶、土壤)样品约 500 g,放入粉碎机中磨碎,制备供分析样品。称取 2.00 g 样品至 50 mL 离心管,加入 10 mL 乙腈,涡旋 1 min,过夜避光浸泡。再加入乙酸铵和 NaCl 各 0.5 g,涡旋振荡混匀,以 8000 r/min 离心 4 min,将 6 mL 上层提取液放入装有 PSA, GCB 和无水 MgSO_4 的 10 mL 离心管中,涡旋混匀 1 min,使填料充分吸附杂质,以 8000 r/min 离心 4 min,取上清液过 0.22 μm 滤膜,供 UPLC-MS/MS 测定。

2.4 标准溶液配制与标准曲线

分别称取 0.0100 g 丁醚脲和丁醚脲-脲标准品至烧杯中,乙腈溶解并转移到 50 mL 容量瓶,定容;分别配制成 200 mg/L 标准储备液。为避免丁醚脲分解,采用棕色容量瓶或铝箔包裹,-20 $^{\circ}\text{C}$ 下避光保存。

将丁醚脲储备液用乙腈稀释成 4000, 1000, 400, 100, 40, 10 和 2.0 $\mu\text{g/L}$ 的系列标准溶液;将丁醚脲-脲储备液用乙腈稀释成 2000, 500, 200, 50, 20, 5.0 和 2.0 $\mu\text{g/L}$ 的系列标准溶液;同时采用空白茶叶鲜叶(或成茶绿茶、红茶、土壤)提取净化液稀释储备液,配制成相应的基质标准溶液,获得丁醚脲、丁醚脲-脲的溶剂/基质标准曲线和线性相关系数及仪器检出限。

2.5 添加回收率与精密度

称取经测定不含丁醚脲及其代谢物的茶叶鲜叶(或成茶绿茶、红茶、土壤)空白样品 2.00 g,分别添加 20, 2 和 0.2 $\mu\text{g/L}$ 的丁醚脲(或丁醚脲-脲)标准溶液 0.40, 0.20 和 0.20 mL,使其相当于 4.00, 0.20 和 0.02 mg/kg 浓度添加水平,混匀后,立即按照 2.3 节加入乙腈溶剂进行处理提取与净化,每个浓度水平重复 5 次;移取相当量的丁醚脲(或丁醚脲-脲)标准溶液至进样小瓶中,加入按照 2.3 节后的空白茶叶鲜叶(或成茶绿茶、红茶、土壤)样品溶液稀释定容,作为基质标准进行测定,计算添加回收率、相对标

准偏差及检出限。

3 结果与讨论

3.1 质谱条件优化

采用 ESI^+ 或 ESI^- 模式电离测定丁醚脲均有报道^[8,9]。本研究对丁醚脲及其代谢物分别进行 ESI^+ 和 ESI^- 模式监测,对比发现,此类化合物在 ESI^+ 模式下有更好的响应,故选择 ESI^+ 模式电离测定。

选择准分子离子峰 $[\text{M} + \text{H}]^+$ 作为母离子,进行二级质谱分析,丁醚脲(B)及其代谢物(C, D)的二级质谱图见图1。不断增加二级碰撞能量,子离子碎片逐渐增多,图2给出了丁醚脲准分子离子峰 $[\text{M} + \text{H}]^+$ m/z 385.3 在不同碰撞能量下的二级质谱图, m/z 385.3 碰撞裂解后生成子离子 m/z 329.2, 312.2, 287.1, 278.2, 270.1, 253.1 和 236.1, 分别代表失去 $\text{H}_2\text{C} = \text{C}(\text{CH}_3)_2$ 、 $\text{H}_2\text{C} = \text{CHCH}_3$ 、 NH_3 和 H_2S 等中性分子。

丁醚脲-脲准分子离子峰 $[\text{M} + \text{H}]^+$ m/z 369.30 在二级碰撞能量裂解下,生成子离子 m/z 313.2, 271.1, 229.1 和 212.1, 分别代表失去 $\text{H}_2\text{C} = \text{C}(\text{CH}_3)_2$ 、 $\text{H}_2\text{C} = \text{CHCH}_3$ 、 $\text{H}_2\text{C} = \text{CHCH}_3$ 和 NH_3 。丁醚脲-甲酰胺体准分子离子峰 $[\text{M} + \text{H}]^+$ m/z 353.3 在进一步二级碰撞裂解下,生成子离子 m/z 297.2, 280.2 及 253.2, 可能分别为丢失 $\text{H}_2\text{C} = \text{CHCH}_3$ 、 NH_3 和 HCN 。

文献[1,2]报道,丁醚脲的一级光解或微生物降解代谢物为活性物质 A 丁醚脲-酰胺体,然后再降解成 C 丁醚脲-脲。但在本研究中,利用质谱全扫描及特征离子扫描对田间残留实验样品的分析未检出 A,而发现其双键加氢化合物 D 丁醚脲-甲酰胺体。D 相对于 B 丁醚脲的相对保留时间与文献[2]报道的不一致,推测可能因为 A 在环境中已经加氢转变,或在前处理中加氢转化成 D,以及降解成 C,因此未检出 A。由于 A 和 D 两种化合物均未购买到标准品,无法进一步进行准确定量分析。表1中所列的丁醚脲-甲酰胺体的 MS/MS 条件也是建立在对实际残留样本中的疑似此化合物 D 色谱峰提取离子 m/z 353.3 进行二级质谱裂解所获得。通过对电喷雾电压、锥孔电压和碰撞能量等条件的优化,获得丁醚脲及其代谢物的定性、定量离子对及碰撞能量等最佳参数(表1)。运行过程中采用柱后阀切换模式进样质谱,有助于降低对离子源的污染。

3.2 液相色谱条件优化

对丁醚脲原药成分的分析测定多采用等度洗脱^[10],并可知在 C_{18} 色谱柱中,丁醚脲属于具有较强保留的化合物。本研究发现,丁醚脲在 C_{18} 柱中保留较强,代谢物丁醚脲-脲次之,丁醚脲-甲酰胺体保留最弱,而茶叶中富含咖啡碱、色素等不同极性的杂质化合物,容易干扰目标化合物分析,因此为保证获得较好的分离度,本方法通过对比,最终选择甲醇和 10 mmol/L 乙酸铵作为流动相,采用梯度洗脱的方法提高分离效果,降低基质中的杂质干扰,尽量减少质谱离子化时的基质效应。采取 2.2 节的梯度程序洗脱,在 0~6 min 内,通过不断线性增加流动相中甲醇的比例,利用质谱全扫描离子监测,依次洗脱出色素、咖啡碱、丁醚脲-甲酰胺体、丁醚脲-脲和丁醚脲等;进一步提高甲醇的比例,有助于洗脱样品中保留较强的杂质,降低杂质对色谱柱的污染。

图3给出了绿茶基质标准溶液的丁醚脲(A1)及丁醚脲-脲(A2)、空白土壤溶液的丁醚脲(B1)及丁醚脲-脲(B2)、空白绿茶样品溶液的丁醚脲(B3)、绿茶实际样品的丁醚脲(C1)和丁醚脲-脲(C2)和丁醚脲-甲酰胺(C3)的二级质谱总离子流色谱图,从中可见丁醚脲及其代谢物得到较好分离,且无背景干扰。

3.3 样品处理净化条件优化

丁醚脲及其代谢物均溶于极性有机溶剂,乙腈、甲醇、丙酮、乙酸乙酯和二氯甲烷均为良好的提取剂。考虑到流动相的条件及后续净化,本研究选取对土壤、动植物试样均具有较好提取率的乙腈作为提取剂,提取出的色素、油脂类杂质较少,且能够沉淀蛋白质等杂质;加入 NaCl 盐析,使乙腈与样品中的水质分层;加入适量乙酸铵,有助于提高丁醚脲在水溶液中的稳定性。

茶叶中富含大量杂质,可采用固相萃取柱或凝胶渗透色谱(GPC)净化,但由于丁醚脲的光不稳定性,前处理长时间暴露于光照下,会导致回收率降低。因此简单、快速的前处理净化方法有助于更准确地获得样品中丁醚脲及其代谢物的实际残留量。QuEChERS 方法中的基质固相分散技术是近年来国际上兴起的快速、高效的农药残留检测前处理技术^[11],具有简单、快速、方便的优点,常采用的固相分散萃

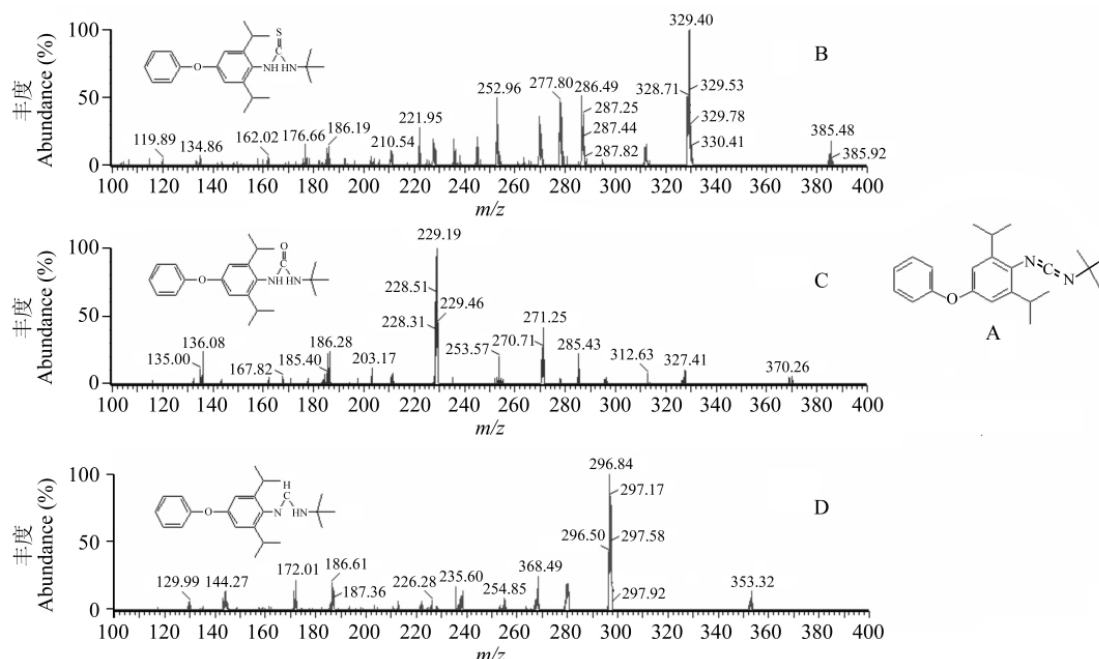


图 1 丁醚脒-酰胺 (A)、丁醚脒 (B)、丁醚脒-脲 (C) 和丁醚脒-甲酰胺 (D) 的结构式及二级质谱图

Fig. 1 Structures and MS/MS spectrum of diafenthion-carbodiimide (A), diafenthion (B) and its metabolites diafenthion-urea (C), diafenthion-methanimidamide (D)

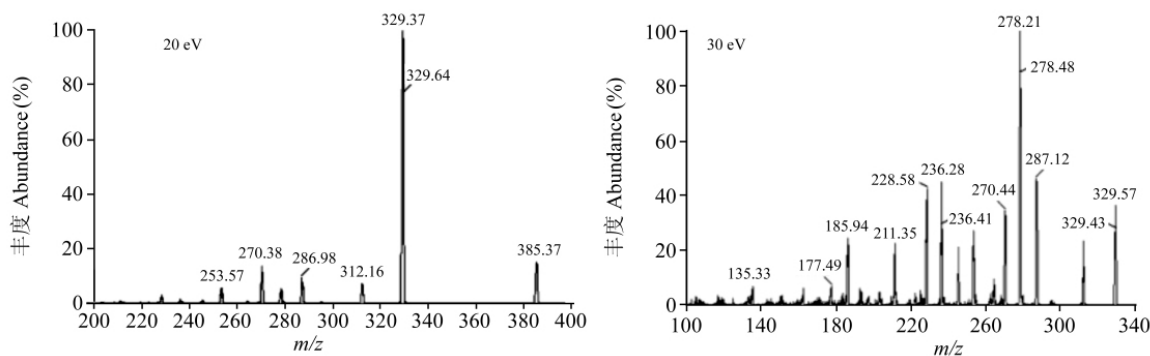


图 2 丁醚脒的准分子离子峰 $[M+H]^+ m/z 385.3$ 在不同碰撞能量下的二级质谱图

Fig. 2 MS/MS spectrum of $[M+H]^+ m/z 385.3$ from diafenthion in different collision energy

取剂主要有 PSA、 C_{18} 和 GCB 等, PSA 能有效去除样本中的脂肪酸、糖类物质等极性基质杂质, C_{18} 能去除部分非极性脂肪和脂溶性杂质, GCB 能去除色素和固醇类杂质。

本研究以丁醚脒为例, 分别在 1 mL 乙腈或 1 mL 正己烷作溶剂的 200 $\mu\text{g/L}$ 标准溶液中, 对比了加入 0.10 g 不同吸附剂(GCB, NH_2 , PSA, C_{18} -N 和 SCX) 的吸附效果, 溶液中残留量测定结果见图 4。结果表明, 在乙腈溶液中, GCB 对丁醚脒吸附最大, 为 25.10%; C_{18} -N 和 SCX 次之, 分别为 6.73% 和 6.75%, NH_2 和 PSA 的吸附最小, 仅为 2.27% 和 5.08%; 而在正己烷溶液中, GCB 对丁醚脒吸附最小, 为 63.16%, C_{18} -N 和 NH_2 次之, 分别为 91.79% 和 93.49%, SCX 和 PSA 的吸附最大, 分别为 97.78% 和 96.18%; GCB 和 C_{18} -N 虽然会带入紫外下可观测的大杂峰, 但 GCB 能有效去除实际样品基质色素干扰。

考虑到茶叶鲜叶、干茶及土壤的实际情况, 选择适量 GCB 和 PSA 作为固相分散萃取剂, 并加入适量无水 MgSO_4 进一步去除提取液中的水分。对不同的样品基质, 选择不同量的填料配比进行优化, 最终发现对于 6 mL 各种基质提取液分别采取下列配比, 鲜叶: 0.30 g PSA + 0.20 g MgSO_4 + 0.050 g GCB; 干茶: 0.30 g PSA + 0.10 g MgSO_4 + 0.050 g GCB; 土壤: 0.10 g PSA + 0.10 g MgSO_4 + 0.010 g GCB, 既能除去大部分杂质, 又能满足回收率要求。2 g 样品仅需 10 mL 乙腈, 节省了有机溶剂, 降低了污染。

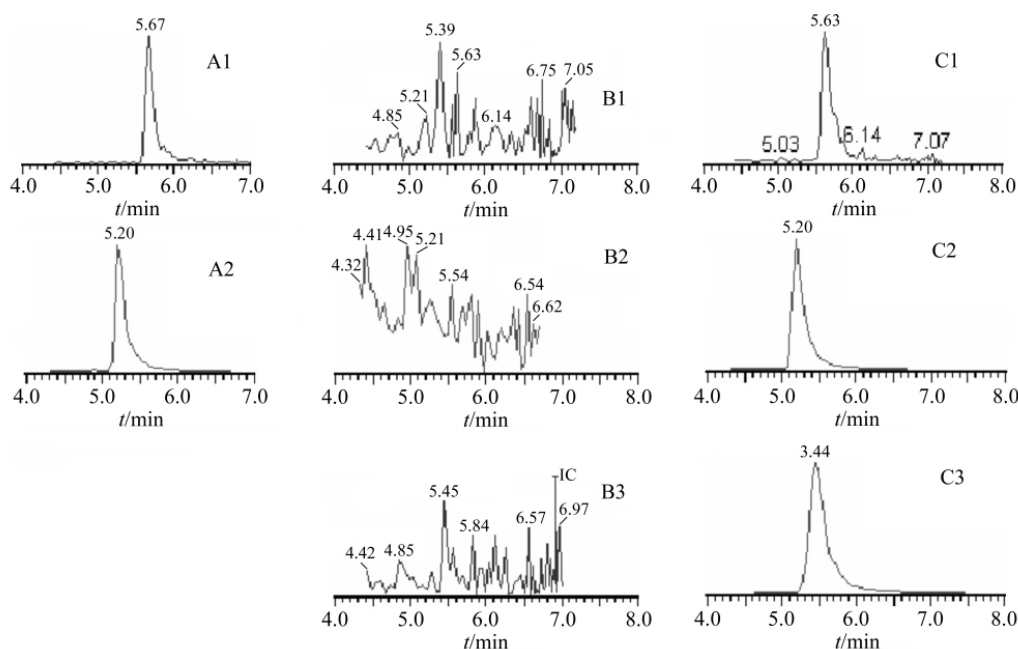


图3 绿茶基质标准溶液中的丁醚脞(A1)及丁醚脞-脲(A2)、空白土壤溶液中的丁醚脞(B1)及丁醚脞-脲(B2)、空白绿茶样品溶液中的丁醚脞(B3)、绿茶实际样品中的丁醚脞(C1)、丁醚脞-脲(C2)和丁醚脞-甲酰胺(C3)的二级质谱总离子流色谱图

Fig. 3 MS/MS total ions chromatogram of diafenthion (A1) and diafenthion-urea (A2) in matrix standard solution of green tea; diafenthion (B1) and diafenthion-urea (B2) in soil blank solution; diafenthion (C1), diafenthion-urea (C2) and diafenthion-methanimidamide (C3) in real green tea sample

3.4 线性方程、检出限、回收率和精密度

在不同基质中,丁醚脞浓度在 $2.0 \sim 4000 \mu\text{g/L}$ 范围内,丁醚脞-脲浓度在 $2.0 \sim 2000 \mu\text{g/L}$ 范围内,以溶液浓度为横坐标 X ,定量离子对的提取离子色谱峰面积为纵坐标 Y ,获得的相关线性方程见表2,相关系数基本大于0.99。根据信噪比 $S/N=3$ 计算,检出限分别为0.5和 $0.2 \mu\text{g/L}$ 。丁醚脞-脲在乙腈溶剂和绿茶基质中的标准曲线更符合二次曲线。丁醚脞和丁醚脞-脲在鲜叶、土壤基质中表现出一定的基质减弱效应。因此,在测定时,为保证结果准确,采用基质标准进行定量分析。

在0.020, 0.200和 4.00 mg/kg 添加水平下,不同样品中丁醚脞和丁醚脞-脲的回收率见表3,除成茶绿茶中的丁醚脞低浓度水平回收率较低(56.3%和64.1%)以外,其余均介于70.8%~

110.5%之间,相对标准偏差介于0.8%~14.4%之间,方法定量限分别为0.005和 0.002 mg/kg 。

研究发现,在鲜叶等含水量较多的样品中,由于水分的存在,添加入标准溶液后,应尽快加入乙腈进行提取,否则会降低丁醚脞的回收率,此结果与文献[1]吻合。未加入乙腈前,添加样品放置时间越长,经质谱监测发现降解生成的丁醚脞-甲酰胺和丁醚脞-脲越多,从而导致丁醚脞原成分的回收率越低。添加 0.200 mg/kg 丁醚脞的茶叶鲜叶样品,分别放置0, 30和120 min后,再加入乙腈提取,回收率分别为75.5%, 35.8%和15.7%;而立即加入足量的乙腈,混匀后再放置提取,对回收率影响不大,能满

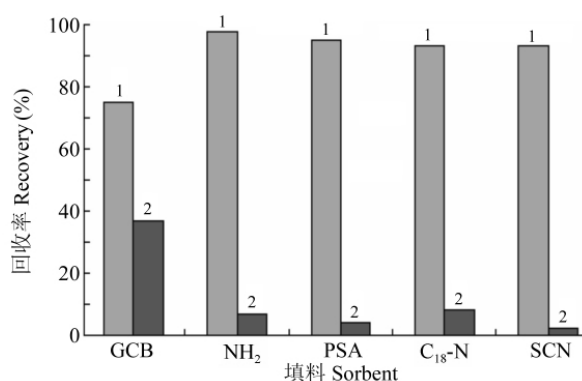


图4 0.10 g 不同类型填料对乙腈、正己烷中的丁醚脞吸附回收率效果

Fig. 4 Recoveries of diafenthion after adsorbed by different kinds of adsorbents of 0.10 g in acetonitrile and hexane

1. 乙腈 (Acetonitrile); 2. 正己烷 (Hexane)。

足需要,可能是因为某些能降解丁醚脲的活性物质在大量有机溶剂存在时被抑制。同时发现,丁醚脲在干茶红茶中的回收率要远大于绿茶,推断可能是红茶经过发酵后,损失了其降解丁醚脲的活性物质;在绿茶中,这些物质还能表现出活性,降解了丁醚脲,导致回收率低。

3.5 实际样品测定

应用本方法于丁醚脲田间残留实验的茶叶、土壤实际样品丁醚脲及其代谢物残留检测中。使用 18% 联苯菊酯·丁醚脲微乳剂(含丁醚脲 15%),按推荐高剂量(丁醚脲有效成分 10 g/亩,1 亩=667 m²)的 1.5 倍施药,每亩兑水 60 L,施药间隔期为 7 d,喷药 1~2 次,分别于 2009 年 10 月在杭州茶园和 2010 年 6 月在绍兴茶园进行实验。喷洒 1 次后,间隔 3,5,7 和 14 d 后采集茶鲜叶进行测定。鲜叶中丁醚脲残留量均小于 0.050 mg/kg,丁醚脲-脲残留量介于 2.9~0.037 mg/kg 之间。喷施 2 次后,间隔 3,5,7 和 14 d 后,采集茶鲜叶和土壤样品,将鲜叶烘干制成成茶进行测定,成茶中丁醚脲残留量均小于 0.0500 mg/kg,丁醚脲-脲残留量介于 9.5~0.17 mg/kg 之间,茶园土壤中丁醚脲及丁醚脲-脲残留量均小于 0.005 mg/kg。

上述结果表明,本方法符合农药残留分析标准(RAQCG)^[12]的要求,可用于茶叶及土壤中丁醚脲及其代谢物丁醚脲-脲的快速检测和确证分析。

表 2 不同基质中 UPLC-MS/MS 测定丁醚脲及其代谢物残留的线性方程、相关系数、仪器检出限

Table 2 Linear regression equations, correlation coefficients(r^2) and limit of detection(LOD) of diafenthiuron and diafenthiuron-urea by UPLC-MS/MS determination in different matrix

化合物 Compound	基质 Matrix	浓度范围 Concentration range (mg/L)	回归方程 Regression equations	相关系数 (r^2)	检出限 LOD ($\mu\text{g/L}$)
丁醚脲 Diafenthiuron	乙腈 Acetonitrile	0.002~4.0	$Y = 546.83X + 29506$	0.9980	0.5
	鲜叶 Fresh tea		$Y = 419.39X + 4720.8$	0.9999	0.5
	绿茶 Green tea		$Y = 507.09X + 22523$	0.9982	0.5
	土壤 Soil		$Y = 439.03X + 16121$	0.9986	0.5
丁醚脲-脲 Diafenthiuron-urea	乙腈 Acetonitrile	0.002~2.0	$Y = 613.58X + 53374$	0.9494	0.2
			$Y = -0.3483X^2 + 1315.4X - 11436$	0.9949	0.2
	鲜叶 Fresh tea		$Y = 587.75X + 10447$	0.9989	0.2
			$Y = -0.0447X^2 + 677.88X + 2123.4$	0.9998	0.2
	绿茶 Green tea		$Y = 610.02X + 51951$	0.9487	0.2
			$Y = -0.3494X^2 + 1314X - 13059$	0.9951	0.2
	土壤 Soil		$Y = 522.46X + 11830$	0.9970	0.2
			$Y = -0.0725X^2 + 668.59X - 1664.1$	0.9998	0.2

表 3 丁醚脲及其代谢物在不同样品基质中的添加回收率、精密度和方法定量限

Table 3 Average recoveries, relative standard deviation(RSD) and limit of quantification(LOQ) of diafenthiuron and diafenthiuron-urea by UPLC-MS/MS determination in different sample matrix

化合物 Compound	样品基质 Matrix	回收率 Recovery(%, $n=5$)			精密度 RSD(%, $n=5$)			方法定量限 LOQ (mg/kg)
		0.02 mg/kg	0.20 mg/kg	4.00 mg/kg	0.02 mg/kg	0.20 mg/kg	4.00 mg/kg	
丁醚脲 Diafenthiuron	鲜叶 Fresh tea	92.3	75.5	76.9	7.7	6.4	5.5	0.005
	绿茶 Green tea	56.3	64.1	74.0	8.4	8.0	1.0	0.005
	红茶 Black tea	104.0	94.6	93.4	4.5	4.8	3.0	0.005
	土壤 Soil	70.8	76.9	80.7	14.4	3.2	12.6	0.005
丁醚脲-脲 Diafenthiuron-urea	鲜叶 Fresh tea	105.2	100.7	86.6	4.6	1.6	5.1	0.002
	绿茶 Green tea	90.2	96.7	95.6	6.0	3.8	1.3	0.002
	红茶 Black tea	99.9	101.0	93.0	3.7	0.8	2.1	0.002
	土壤 Soil	107.7	110.5	100.1	5.2	5.1	4.2	0.002

References

- 1 Kayser H and Eilinger P. *Pest Manag. Sci.*, **2001**, 57: 975~980
- 2 Keum Y S, Kim J H, Kim Y W, Li Q X. *Pest Manag. Sci.*, **2002**, 58: 496~502
- 3 Johnson S, Subramanian C, Gnanadhas P, Sasthakutty K. *Pest Manag. Sci.*, **2010**, 66: 505~510

- 4 Commission Regulation (EC) , No. 2076/2002, 2002
- 5 WANG Jin-Hua, LU Xiao-Yu, HUANG Mei, WU Zhuan, MA Gui-Ping, XU Chao-Yi(王金花, 卢晓宇, 黄 梅, 吴 琢, 马贵平, 徐超一) . *Chinese J. Anal. Chem.* (分析化学) , 2007, 35(10) : 1509 ~ 1512
- 6 LI Yong-Fu, GAO Hua-Peng, ZHANG Jian-Ling, YING Yue-Kang, WU Zhi-Yun, RONG Wen-Qin(李永夫, 高华鹏, 张健玲, 应跃康, 吴志云, 容文钦) . *Chinese J. Anal. Chem.* (分析化学) , 2008, 36(6) : 755 ~ 759
- 7 CHEN Wu-Ying, DONG Feng-Shou, LIU Xin-Gang, QIN Dong-Mei, LIAO Xiao-Lan, CHENG Li, WANG Cheng-Rui, ZHENG Yong-Quan(陈武英, 董丰收, 刘新刚, 秦冬梅, 廖晓兰, 程 莉, 王晨蕊, 郑永权) . *Chinese J. Anal. Chem.* (分析化学) , 2010, 38(4) : 508 ~ 512
- 8 DING Hui-Ying, XIE Wen, ZHOU Zhao-Qian, LI Bo, JIANG Qin-Ting(丁慧瑛, 谢 文, 周召千, 李 铂, 蒋沁婷) . *Journal of Instrumental Analysis*(分析测试学报) , 2009, 28(8) : 970 ~ 974
- 9 Kmeřlár B, Fodora P, Pareja L, Ferrer C, Martínez-Uroz M A, Valverde A, Fernandez-Alba A R. *J. Chromatogr. A* , 2008, 1215(1-2) : 37 ~ 50
- 10 SONG Zeng-Tao, JIA Zeng-Po, LU Yue-Zhou, HUANG Si-Guo, CONG Ling(宋增涛, 贾增坡, 鲁跃舟, 黄思国, 丛玲) . *Pesti. Sci. Admin.* (农药科学与管理) , 2009, 30(1) : 11 ~ 13
- 11 Dasgupta S, Banerjee K, Patil S H, Ghaste M, Dhupal K N, Adsule P G. *J. Chromatogr. A* , 2010, 1217(24) : 3881 ~ 3889
- 12 General Administration of Quality Supervision, Inspection and Quarantine of the People's Republic of China(中华人民共和国质量监督检验检疫总局) . *Residues Analysis Quality Control Guide* (残留分析质量控制指南) . Beijing(北京) , 2002

Determination of Diafenthiuron and Its Metabolites in Tea and Soil by Ultra Performance Liquid Chromatography-Electrospray Ionization Tandem Mass Spectrometry

ZHANG Xin-Zhong^{1,2,3}, LUO Feng-Jian¹, LIU Guang-Ming¹, LOU Zheng-Yun¹, CHEN Zong-Mao^{*1}

¹(Research Center of Quality Safety for Agricultural Products, Tea Research Institute,
Chinese Academy of Agricultural Sciences, Hangzhou 310008)

²(Key Laboratory of Processing and Quality Control of Tea & Beverage Plants Products,
Ministry of Agriculture, Hangzhou 310008)

³(Key Laboratory of Tea Processing Engineering of Zhejiang Province, Hangzhou 310008)

Abstract A rapid and convenient UPLC-MS/MS method for analysis of diafenthiuron and its metabolites in tea and soil has been developed and validated. The sample was extracted with acetonitrile, added ammonium acetate and sodium chlorid, after centrifugation, the upper solvent was cleaned-up by N-propylethyl-diamine (PSA) and graphitizing of carbon black (GCB) , then determined by UPLC-MS/MS coupled with Waters Acquity UPLC BEH C₁₈ column (100 mm × 2.1 mm × 1.7 μm) . Sample matrix-matched calibration was used to determine the residue contents by external standard. Over the concentration in the range of 2.0 – 4000 μg/L (2.0 – 2000 μg/L) for diafenthiuron (diafenthiuron-urea) in different matrix, the correlation coefficients (*r*) of the calibration curves were above 0.99, and the limits of detection (LODs) were 0.5 μg/L (0.2 μg/L) for each other. The recoveries of diafenthiuron and diafenthiuron-urea in fresh tea leaves, green tea, black tea and soil at three spiked concentration levels of 0.020, 0.200 and 4.00 mg/kg ranged from 70.8% to 110.5% with relative standard deviations (RSDs) between 0.8% and 14.4% (*n* = 5) , except for the recoveries of diafenthiuron in green tea at the lower level (56.3% , 64.1%) . The limits of quantitation (LOQs) of diafenthiuron and diafenthiuron-urea were 0.005 mg/kg and 0.002 mg/kg, respectively. For validated, this method has been applied to the determination of diafenthiuron and its metabolites in field treatment experimental samples with a good result.

Keywords Ultra performance liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry; Tea; Diafenthiuron and its metabolites

(Received 27 November 2010; accepted 24 April 2011)