

## 气相色谱-串联质谱法快速检测水果中的多效唑残留

宋莹<sup>1,2</sup> 张耀海<sup>2</sup> 黄霞<sup>2</sup> 潘家荣<sup>\*1</sup> 焦必宁<sup>\*2</sup>

<sup>1</sup>(中国农业科学院农产品加工研究所/农业部农产品加工与质量控制重点实验室,北京 100193)

<sup>2</sup>(中国农业科学院柑桔研究所/西南大学柑橘研究所,重庆 400712)

**摘要** 建立了农药残留快速检测(QuEChERS)-气相色谱-串联质谱法检测桃、樱桃和荔枝中多效唑残留的分析方法。样品用乙腈快速提取,无水 MgSO<sub>4</sub> 和 NaCl 除水后,经 *N*-丙基乙二胺和石墨化炭黑净化,用气相色谱-串联质谱分析。采用多反应监测正离子模式检测,定性离子对为  $m/z$  236/125,236/167,采用  $m/z$  236/125 进行定量分析。在 0.005,0.05 和 0.5 mg/kg 添加水平下,样品平均回收率为 86.7%~126.7%;相对标准偏差为 2.0%~19.6%;在桃、樱桃和荔枝中的检出限分别为 0.4,0.5 和 0.5 μg/kg。结果表明:本方法简便、快速、安全、价格低廉,重现性良好,可用于水果样品中多效唑残留的快速确证检测。

**关键词** 农药残留快速检测;气相色谱-串联质谱法;多效唑;水果

### 1 引言

多效唑(Paclbutrazol),是 20 世纪 80 年代末开发出的一种三唑类植物生长调节剂。在果树上使用可以控制过量的营养生长,促进成花,提高产量,应用广泛。但多效唑在土壤中易被吸附且降解慢,易累积,加之果农大量施用或使用不当,有可能导致果实中的残留量过高,对人身安全产生危害。瑞典等欧洲国家现已在果树上禁用多效唑,日本、新西兰、韩国和澳大利亚等国家也制定了多效唑在多种水果中的最大残留限量(MRL)<sup>[1]</sup>。目前我国仅规定了苹果中多效唑的最大残留限量值(0.5 mg/kg)<sup>[2]</sup>。

用于农产品中多效唑残留检测的方法主要有气相色谱法(GC)<sup>[3,4]</sup>、液相色谱法(LC)<sup>[5~7]</sup>、气相色谱-质谱法(GC-MS)<sup>[8,9]</sup>和液相色谱-串联质谱法(LC-MS-MS)<sup>[10,11]</sup>。文献[6,7]采用液相色谱结合紫外检测器或荧光检测器测定了苹果中的多效唑残留。但是常用的色谱法仅依靠保留时间进行定性分析,易产生假阳性或假阴性的漏检;文献[8,9]采用 GC-MS 法测定了粮谷、苹果和蔬菜中的多效唑残留,但 GC-MS 的检测灵敏度不高。MS-MS 技术具有定性准确,抗干扰能力强,检测灵敏度高等优点,Sancho 等<sup>[11]</sup>建立了 LC-ESI-MS/MS 分析梨中多效唑的方法,检出限可达 0.7 μg/kg,但样品前处理比较繁琐。

目前,多效唑残留的提取方法已多有报道,如采用乙腈或丙酮浸泡提取样品中的多效唑<sup>[3,8,9]</sup>;采用丙酮/水或 80% 甲醇提取样品中的多效唑,二氯甲烷反提,过层析柱或弗罗里硅土柱净化<sup>[6,7]</sup>;国家标准 GB/T 19648-2006<sup>[12]</sup>采用乙腈提取样品,再用活性碳柱和氨基柱净化。但这些前处理方法步骤繁琐、耗时,称样量大,有机溶剂消耗量也大。近年来,农药残留分析的样品前处理方法正向简单化、节约化和微型化方向发展。农药残留快速检测(QuEChERS)是 2003 年由 Anastassiades 与 Lehotay 首次提出并予以报道,其技术核心是在样品提取液中加入除水剂和净化剂,以除去多余的水分和杂质,净化液经离心后直接进行分析。该方法已经广泛应用于蔬菜、水果和农产品中的农药残留分析<sup>[13~15]</sup>。本研究采用改进的 QuEChERS 方法提取和净化样品,利用 GC-MS/MS 进行检测。本方法简单方便、易于操作,能够满足水果中多效唑残留快速确证检测的要求。

### 2 实验部分

#### 2.1 仪器与试剂

320 气相色谱-三重四极杆串联质谱仪(Varian 公司);VF-5MS 石英毛细管柱(30 m×0.25 mm×0.25

2010-11-18 收稿;2011-01-25 接受

本文系国际原子能机构技术援助项目(No. CPR5018)、“十一五”国家 863 计划(No. 2006AA10Z449)、“十一五”国家科技支撑计划项目(Nos. 2007BAD47B07,2009BADB7B04)与现代农业(柑桔)产业技术体系建设专项资助

\* E-mail: panjr@263.net, bljiao@tom.com

$\mu\text{m}$ ), Varian 公司); CL31/CL31R 多用途离心机 (Thermo Fisher 公司); KS 260 圆周式振荡摇床 (德国 IKA 公司); EH 20B 微控电热板 (北京莱伯泰科仪器有限公司)。乙腈、环己烷 (色谱纯, 德国 CNW Technologies GmbH 公司); 丙酮 (色谱纯, 成都市科龙化工试剂厂); NaCl, 无水  $\text{MgSO}_4$  (分析纯, 国药集团化学试剂有限公司); *N*-丙基乙二胺 (PSA, CNW Technologies GmbH 公司); 石墨化炭黑 (GCB, 大连思谱精工有限公司); 多效唑标准品 (纯度 99.3%, 德国 Dr. Ehrenstorfer 公司)。

## 2.2 实验方法

**2.2.1 色谱条件** 进样口温度:  $250\text{ }^\circ\text{C}$ ; 升温程序:  $80\text{ }^\circ\text{C}$  保持 1 min, 以  $40\text{ }^\circ\text{C}/\text{min}$  升温至  $240\text{ }^\circ\text{C}$ , 再以  $5\text{ }^\circ\text{C}/\text{min}$  升温至  $280\text{ }^\circ\text{C}$ , 保持 8 min; 载气: 高纯氦气, 纯度  $\geq 99.999\%$ , 流速为  $1.0\text{ mL}/\text{min}$ ; 进样方式: 不分流进样, 进样体积为  $1\text{ }\mu\text{L}$ 。

**2.2.2 质谱条件** MS 电离方式为 EI, 电子能量  $70\text{ eV}$ ; 离子源温度  $230\text{ }^\circ\text{C}$ ; 传输线温度  $280\text{ }^\circ\text{C}$ ; 采用多反应监测 (MRM) 正离子模式检测; 定性离子对为  $m/z$  236/125, 236/167, 定量离子对为  $m/z$  236/125。

**2.3 标准溶液的配制** 标准工作液: 准确称取  $10\text{ mg}$  (精确至  $0.1\text{ mg}$ ) 多效唑标准品, 用丙酮-环己烷 (3:7, V/V) 溶解并定容至  $10\text{ mL}$ , 配成  $1\text{ g}/\text{L}$  标准工作液,  $-50\text{ }^\circ\text{C}$  避光保存。准确吸取标准储备液, 用丙酮-环己烷 (3:7, V/V) 稀释定容, 配成  $5\text{ }\mu\text{g}/\text{L}$  标准工作液, 置于  $4\text{ }^\circ\text{C}$  冰箱保存。

基质空白标准溶液: 准确吸取  $50\text{ }\mu\text{L}$   $5\text{ }\mu\text{g}/\text{L}$  标准工作液, 加到  $1.0\text{ mL}$  样品空白提取液中, 配成基质空白标准溶液, 现用现配。本实验采用单点定量法测定。

**2.4 样品前处理方法** 准确称取  $2.00\text{ g}$  (精确至  $0.01\text{ g}$ ) 已粉碎的均质样品于  $10\text{ mL}$  聚四氟乙烯离心管中, 加入  $4.00\text{ mL}$  乙腈, 振荡 1 min, 加入  $0.8\text{ g}$   $\text{MgSO}_4$  和  $0.2\text{ g}$  NaCl, 振荡 ( $500\text{ r}/\text{min}$ ) 5 min, 离心 ( $4000\text{ r}/\text{min}$ ) 5 min, 取  $2.00\text{ mL}$  上清液转入已加有  $50.0\text{ mg}$  PSA 和  $4.0\text{ mg}$  GCB 的  $4\text{ mL}$  聚四氟乙烯离心管中, 振荡混合 1 min, 离心 ( $4000\text{ r}/\text{min}$ ) 5 min, 取上清液  $1.00\text{ mL}$  置于电热板  $45\text{ }^\circ\text{C}$  下蒸至近干, 用丙酮-环己烷 (3:7, V/V) 定容至  $1.00\text{ mL}$ , 供 GC-MS/MS 分析。

## 3 结果与分析

### 3.1 QuEChERS 方法条件的选择

**3.1.1 提取** 丙酮、乙酸乙酯和乙腈是常用的分析多效唑残留的提取剂。与丙酮和乙酸乙酯相比, 乙腈不容易提取色素和基质中的蜡质、脂肪等非极性成分, 而且通过盐析更容易去除样品中的水分。故本实验选用乙腈作为提取剂。

采用 QuEChERS 方法, 以无水  $\text{MgSO}_4$  为除水剂, 可除去大部分水。多效唑经过液-液提取后分配到乙腈层中, 但乙腈微溶于水, 所以有机相中仍有残留水分。加入 NaCl, 可以通过饱和盐析作用促使水相和有机相分层, 减少共提取物质, 提高多效唑的回收率。NaCl 用量对多效唑回收率的影响如图 1 所示。结果发现, NaCl 添加量为  $0.2\text{ g}$  时可获得较高的回收率。

根据称样量确定前处理过程中有机试剂用量。GB/T 19648-2006<sup>[12]</sup> 及文献 [13, 14] 报道的方法的称样量为  $10\sim 20\text{ g}$ , 乙腈用量为  $15\sim 40\text{ mL}$ 。本研究采用灵敏度较高的 GC-MS/MS 检测水果中多效唑残留, 将称样量降至  $2\text{ g}$ , 乙腈用量仅为  $4\text{ mL}$ , 样品和试剂的用量均大大降低。

**3.1.2 净化** PSA 是弱离子交换的固相萃取材料, 去除脂肪酸的效果较好。但去除色素、甾醇和维生素的效果一般; GCB 去除色素、维生素和甾醇的效果较好, 但对极性农药的吸附作用较强。本方法在净化过程中除使用 PSA 外, 同时考虑 GCB。结果证明, 只用 PSA 净化时, 溶液中存在大量色素, 尤其是荔枝提取液加入 PSA 后会产生黄色色素, 污染离子源, 干扰检测结果。经过 GCB 净化的样品基本澄

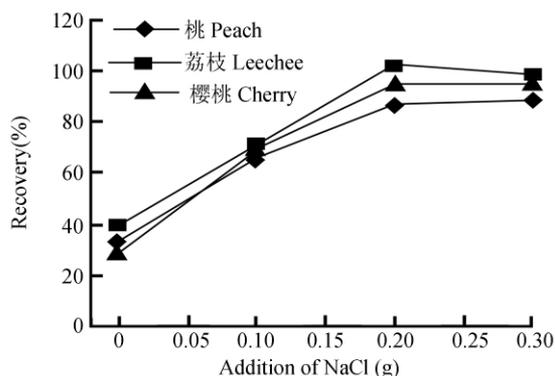


图 1 NaCl 加入量对多效唑回收率的影响

Fig. 1 Effect for adding NaCl on recovery for paclobutrazol

清。但是当 GCB 过量时会吸附多效唑使其回收率降低。本实验最终确定 PSA 和 GCB 用量分别为 50 和 4 mg。结果表明,采用混合型分散固相萃取填料处理样品,净化效果良好,溶液澄清透明,对目标物质无干扰,定性与定量分析效果良好。

### 3.2 基质效应

基质效应是指样品中除目标化合物以外的其它成分对目标化合物响应值的影响。应用 GC-MS/MS 测定复杂基质样品时,基质中除目标化合物以外的其它成分对目标化合物的响应值一般具有增强效应。基质效应会降低方法的灵敏度,影响方法的准确性。取 0.005, 0.05 和 0.5 mg/kg 的样品标准溶液进样,得到的回收率分别为 221.3%, 197.5% 和 189.6%。而采用空白样品提取液作为标准溶液的稀释液,在相同的色谱条件下进样,得到的回收率为 121.9%, 102.5% 和 98.2%。这是因为用空白样品提取液稀释标准溶液可以使标准溶液和样品溶液的离子化条件相同,从而减弱基质效应<sup>[10]</sup>。

### 3.3 分析条件选择

通过 0.5 mg/L 多效唑标准溶液单级质谱分析,确定多效唑的特征碎片离子  $m/z$  236/125, 236/167。将这两对特征碎片离子设为母离子,进行子离子扫描,碰撞电压设为 10 V。通过子离子扫描,确定多效唑的特征碎片离子及相应的子离子,建立 MRM 模式。

### 3.4 方法评价

用空白基质加标法进行回收率和精密度实验。分别对空白荔枝、桃子及樱桃 3 种基质进行 0.005, 0.05 和 0.5 mg/kg 水平的加标实验,以 2.4 的方法对样品进行前处理,平行测定 6 次,计算得回收率为 86.7%~126.7%, 相对标准偏差为 2.0%~19.6%(表 1),表明本方法有较好的准确度和精密度,可满足农药残留定量分析的要求。检出限根据添加的最低浓度给出,按照 3 倍信噪比设定得出桃、樱桃及荔枝检出限分别为 0.4, 0.5 和 0.5  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

### 3.5 实际样品测定

多效唑作为植物生长调节剂,在荔枝、桃子及樱桃的生产过程中广泛应用。从国内 3 个城市抽取荔枝、桃子、樱桃样品若干份,采用 QuEChERS-GC-MS/MS 快速分析各样品中多效唑残留。结果显示,桃子中部分样品检出多效唑残留,检出浓度为 0.004~0.036 mg/kg;樱桃中多效唑残留检出浓度为 0.004~0.045 mg/kg;荔枝果肉中未检出多效唑残留,这可能是因为多效唑是非内吸性农药,荔枝果皮较厚,多效唑难以通过果皮进入果肉组织内部。图 2 给出了检出多效唑的油桃样品色谱图。

表 1 方法的准确度和精密度

Table 1 Results of recovery and precision test

|               |                      | 添加水平<br>Spiked (mg/kg) | 0.005 | 0.05  | 0.5   |
|---------------|----------------------|------------------------|-------|-------|-------|
| 桃<br>Peach    | 回收率 Recovery (%)     |                        | 86.7  | 114.7 | 102.1 |
|               | 相对标准偏差 RSD (% , n=6) |                        | 13.3  | 2.0   | 7.8   |
| 荔枝<br>Leechee | 回收率 Recovery (%)     |                        | 120.0 | 104.0 | 104.7 |
|               | 相对标准偏差 RSD (% , n=6) |                        | 16.7  | 3.8   | 19.6  |
| 樱桃<br>Cherry  | 回收率 Recovery (%)     |                        | 126.7 | 112.0 | 96.4  |
|               | 相对标准偏差 RSD (% , n=6) |                        | 9.1   | 3.6   | 11.0  |

本研究通过对 QuEChERS 方法的改进,提高了方法的灵敏度和基质的净化效果,结合 GC-MS-MS 应用于水果中多效唑残留的快速检测。本方法与现有方法相比,除操作简单、快速准确、灵敏度高、重现性良好外,检测成本也非常低(测定一个样品仅需 2~3 元),而且避免使用大量有机溶剂,减少了对环境的污染,可作为实验室多效唑残留的常规检测方法。

### References

- 1 Maximum Residue Limits (MRLs) List of Agricultural Chemicals in Foods [EB/OL]. <http://www.m5.ws001.squarestart.ne.jp/foundation/search.html>

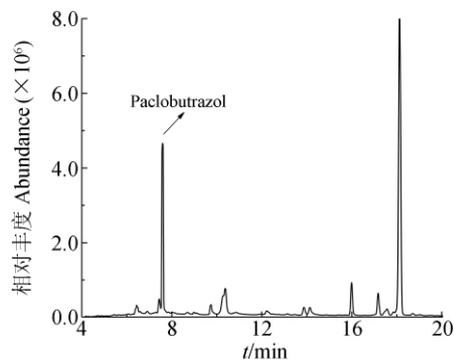


图 2 油桃实际样品的多效唑色谱图

Fig. 2 Chromatogram of paclobutrazol in real peach sample

- 2 NY 1500.10.1-2007. *Maximum Residue Limits for Pesticides in Farm Products*(农产品中农药最大残留限量). Ministry of Agriculture of the People's Republic of China(中华人民共和国农业行业标准)
- 3 ZHAO Jian, YANG Ting, ZHANG Huan, LÜ Yan(赵健,杨挺,张欢,吕燕). *Acta Agriculturae Jiangxi*(江西农业学报), **2009**, 21(11): 104~105
- 4 Bhattacharjee A K, Singh V K. *Indian Journal of Plant Physiology*, **2002**, 7(3): 282~284
- 5 Craighton S M, C Richard U, Sylvia M B, Laura J L. *J. Plant Growth Regul.*, **1990**, 9(1): 27~35
- 6 LIU Su, HUANG Wei-Dong, DAI Yun-Qing(刘肃,黄卫东,戴蕴青). *Acta Horticulture Sinica*(园艺学报), **1994**, 21(1): 91~93
- 7 QIAN Chuan-Fan, MING Jiu-Xue(钱传范,明九雪). *Agrochemicals*(农药), **1998**, 37(9): 29~30
- 8 BAI Hua, QIU Yue-Ming, HAO Nan, ZHANG Qing(白桦,邱月明,郝楠,张青). *Inspection and Quarantine Science*(检验检疫科学), **2004**, 14(3): 54~55
- 9 LÜ Yan, ZHAO Jian, YANG Ting, WANG Li-Jun(吕燕,赵健,杨挺,王立君). *China Measurement and Test*(中国测试), **2010**, 36(4): 57~59
- 10 LI Yan, ZHENG Fen, WANG Ming-Lin, PANG Guo-Fang(李岩,郑锋,王明林,庞国芳). *Chinese Journal of Chromatography*(色谱), **2009**, 27(2): 127~137
- 11 Sancho J V, Pozo O J, Zamora T, Grimalt S, Hernadez F. *Agric Food Chem.*, **2003**, 51: 4202~4206
- 12 GB/T 19648-2006, *Method for determination of 500 pesticides residues in fruits and vegetables-GC-MS*(水果和蔬菜中 500 种农药及相关化学品残留量的测定 气相色谱-质谱法). National Standards of the People's Republic of China(中华人民共和国国家标准)
- 13 Anastassiades M, Lehotay S J, Stajnbaher D, Schenck F J. *J. AOAC International*, **2003**, 86(2): 421~431
- 14 Lehotay S J, Kok A D, Hiemstra M, Bodegraven P V. *J. AOAC International*, **2005**, 88(2): 595~614
- 15 GUO Wei, LIU Yong, LIU Ning, WEI Dong-Xu(郭伟,刘永,刘宁,魏冬旭). *Chinese J. Anal. Chem.*(分析化学), **2009**, 37(11): 1638~1644

## Rapid Determination of Paclobutrazol in Fruits by QuEChERS Cleanup and Gas Chromatography-tandem Mass Spectrometry

SONG Ying<sup>1,2</sup>, ZHANG Yao-Hai<sup>2</sup>, HUANG Xia<sup>2</sup>, PAN Jia-Rong<sup>\*1</sup>, JIAO Bi-Ning<sup>\*2</sup>

<sup>1</sup>(Institute of Agro-Food Sciences and Technology, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100193)

<sup>2</sup>(Citrus Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences/Citrus Research Institute, Southwest University, Chongqing 400712)

**Abstract** In this study, an analytical method was established for the determination of paclobutrazol in fruits (peach, leech and cherry) using the Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe (QuEChERS) cleanup and gas chromatography-tandem mass spectrometry. The paclobutrazol of fruits sample was extracted with acetonitrile, removed the water with anhydrous magnesium sulfate and sodium chloride, cleaned up with dispersive method on primary secondary amine and graphitized carbon black, and detected by gas chromatography-tandem mass spectrometry under multiple reaction monitoring mode. The qualitative results were obtained based on the characteristic  $m/z$  236>125 and  $m/z$  236>167, and the quantitation results were on the intension of the characteristic  $m/z$  236>125. The recoveries of the paclobutrazol were in the range from 86.7% to 130% at the spike levels of 0.005, 0.05 and 0.5 mg/kg into three fruits matrixes, the relative standard deviations (RSDs) were between 2.0% and 19.6%, and the limits of detection were 0.4, 0.5 and 0.5  $\mu\text{g}/\text{kg}$ . The method is simple, quick, safe, reproducible and applicable to confirm paclobutrazol residue in the fruits sample.

**Keywords** Rapid analysis of pesticide residue; Gas chromatography-tandem mass spectrometry; Paclobutrazol; Fruits

(Received 18 November 2010; accepted 25 January 2011)