

林涛, 樊建麟, 杨东顺, 等. 甜椒中噻苯隆的测定及其残留动态[J]. 江苏农业学报, 2016, 32(3): 694-697.

doi: 10.3969/j.issn.1000-4440.2016.03.032

甜椒中噻苯隆的测定及其残留动态

林涛^{1,2}, 樊建麟¹, 杨东顺¹, 乔绍伟³, 刘兴勇¹, 李彦刚¹, 刘宏程^{1,2}

(1. 云南省农业科学院质量标准与检测技术研究所, 云南 昆明 650223; 2. 农业部农产品质量安全风险评估实验室<昆明>, 云南 昆明 650223; 3. 云南省玉溪市红塔区农产品质量安全检测站, 云南 玉溪 653100)

摘要: 为了解噻苯隆在甜椒中的消解动态和最终残留情况, 采用超高效液相色谱-串联质谱(UHPLC-MS/MS)测定。噻苯隆在 0.1~10.0 $\mu\text{g/L}$ 的浓度范围内具有较好的线性, 检出限为 0.05 $\mu\text{g/kg}$, 定量限 0.20 $\mu\text{g/kg}$, 在 3 个添加水平下, 噻苯隆的平均回收率为 90.5%~94.1%, 相对标准偏差为 6.2%~7.3%。田间试验结果表明噻苯隆在甜椒中的消解半衰期为 2.7 d, 属于易降解性农药。最终残留试验结果表明, 噻苯隆在采收期的甜椒中未检测出。该测定方法简单快速, 适于甜椒中噻苯隆的快速测定, 噻苯隆在甜椒上的使用较为安全。

关键词: 甜椒; 噻苯隆; 残留动态

中图分类号: TQ450.2

文献标识码: A

文章编号: 1000-4440(2016)03-0694-04

Determination of thidiazuron and its dissipation behavior in pimiento

LIN Tao^{1,2}, FAN Jian-lin¹, YANG Dong-shun¹, QIAO Shao-wei³, LIU Xing-yong¹, LI Yan-gang¹, LIU Hong-cheng^{1,2}

(1. Institute of Quality Standards & Testing Technique, Yunnan Academy of Agricultural Science, Kunming 650223, China; 2. Laboratory of Quality & Safety Risk Assessment for Agro-products <Kunming>, Ministry of Agriculture, Kunming 650223, China; 3. The Test Station for Quality Security of Farm Products, Hongta Borough, Yunnan Province, Yuxi 677000, China)

Abstract: A method for the determination of thidiazuron in pimiento by using ultra-high performance liquid chromatograph-tandem mass spectrometry (UHPLC-MS/MS) was established, and thidiazuron degradation behavior in pimiento was also investigated. The limit of detection (LOD) of thidiazuron reached 0.05 $\mu\text{g/kg}$ and the limit of quantification (LOQ) was 0.20 $\mu\text{g/kg}$, when the concentration ranged from 0.1 $\mu\text{g/L}$ to 10.0 $\mu\text{g/L}$. For the spiked samples, the average recoveries of thidiazuron ranged from 90.5% to 94.1%, with the relative standard deviations from 6.2% to 7.3%. Field trial showed that the half life of thidiazuron in pimiento was 2.7 d, implying that thidiazuron is degradable. The residue of thidiazuron at harvest appeared to be less than 0.05 $\mu\text{g/kg}$ (LOD). The method is applicable for fast determination of thidiazuron in pimiento.

Key words: pimiento; thidiazuron; residue dynamics

收稿日期: 2015-08-24

基金项目: 云南省社会发展科技计划项目(2012CA005); 2015 年国家农产品质量安全风险评估项目(GJFP2015001); 云南省科技创新平台建设计划项目(2014DA001)

作者简介: 林涛(1987-), 男, 云南昭通人, 硕士, 助理研究员。(E-mail) lintaonj@126.com

通讯作者: 刘宏程, (Tel) 0871-65140430; (E-mail) liuorg@163.com

噻苯隆(图 1), 又叫脱叶灵, 是目前常用于果蔬中的一种外源植物生长调节剂, 主要用于茄果类的蔬菜中, 能够促进植物的新陈代谢, 并促进植物芽的分化等^[1-3]; 噻苯隆的化学结构稳定, 属于低毒农药, 但是过量残留于果蔬中的噻苯隆对人畜仍然具有一定的毒性作用, 如可对眼睛产生轻微的刺激作用等^[4]。

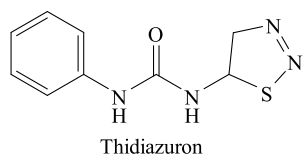


图1 噻苯隆结构

Fig.1 The structure of thidiazuron

噻苯隆具有潜在的毒性,但是目前许多国家和地区对于果蔬中噻苯隆的使用和最大残留限量尚未制定标准,中国国家标准 GB 2763-2014 也只是对噻苯隆在部分蔬菜中的最大残留限量进行了规定^[5],所涉及到的果蔬品种范围较小,特别是对于茄果类的蔬菜最大残留限量规定较少;甜椒是中国消费者经常食用的茄果类蔬菜之一,噻苯隆尚未在甜椒上登记使用,但是目前在甜椒上违法使用噻苯隆的现象时有发生,而 GB 2763-2014 却未对甜椒中噻苯隆的最大残留限量进行规定,这在一定程度上限制了中国农产品质量安全的进程,使得中国甜椒质量安全监管存在漏洞,也给中国甜椒的出口贸易带来了较大的影响。

目前,国内外关于噻苯隆的测定方法较多,主要有液相色谱^[6-8]和液相色谱-质谱联用法^[9-10]等。近年来,超高效液相色谱-串联质谱因其测定快速简单、灵敏度高、假阳性少而广泛应用于农药残留的检测中。

为了评估噻苯隆在甜椒生长过程中的残留降解动态,本研究在田间试验的基础上,借助超高效液相色谱-串联质谱,对甜椒中的噻苯隆残留、消解动态和最终残留情况进行研究,为噻苯隆在甜椒上的合理使用及确定甜椒的安全采收期提供依据,也为今后噻苯隆在甜椒上的登记使用和甜椒中噻苯隆最大残留限量的确定提供基础数据。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

API4000 三重四级杆质谱仪(美国 AB 公司生产);1290 超高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司生产);ZORBAX RRHD 2.1 mm×50.0 mm,1.8 μm 色谱柱(美国 Agilent 公司生产);AE-100 电子分析天平(瑞士 METTLER TOLEDO 公司生产);涡旋振荡器(美国 Thermo Scientific 公司生产);T18 ULTRA-TURRAX 高速匀浆机(德国 IKA 集团生产);TGL-

15B 高速台式离心机(上海安亭科学仪器厂生产)。

噻苯隆标准品(中国百灵威科技公司生产,100 μg/ml);0.1%噻苯隆(陕西省咸阳德丰有限公司生产);乙腈、甲醇(色谱纯,德国 merck 公司生产);氨水、无水 MgSO₄、NaCl、乙酸(分析纯,国药集团化学试剂北京有限公司生产);乙二胺-N-丙基硅烷(PSA)(40 μm,美国 Varian 公司生产);纯净水(杭州娃哈哈集团生产)。

1.2 田间试验设计

1.2.1 消解动态试验 由于噻苯隆在甜椒中未登记使用,在此参照噻苯隆在甜瓜中的推荐剂量,并根据实际情况做适当调整。

喷施剂量:有效成分含量 3.0 mg/kg(制剂量 333 倍液),施药次数为 1 次。

小区面积:15 m²,重复 3 次。待甜椒果实长至成熟果一半大时,对甜椒进行标记后喷雾施药,分别于施药后 2 h、1 d、2 d、3 d、5 d、7 d、10 d、14 d、21 d、30 d,采用随机的方法在试验小区内前、后、左、右多点采集标记的甜椒 15 个(不少于 1 kg),装入样本袋,切碎混匀后利用四分法取 200 g 样品 2 份,放入封口塑料袋中,编号后保存于-20 ℃冰箱中。

1.2.2 最终残留试验 施药时期及施药方法:甜椒膨果期喷雾施药。施药剂量分为低剂量和高剂量,低剂量:有效成分含量 1.5 mg/kg(制剂量 667 倍液);高剂量:有效成分含量 3.0 mg/kg(制剂量 333 倍液);施药次数:每个剂量组又分为 1 次施药组和 2 次施药组(第 2 次施药与第 1 次施药间隔期为 7 d);采收时期:收获期前 5 d、7 d 和 14 d。每个小区面积 15 m²,每处理重复 3 次。

1.3 分析方法

1.3.1 标准溶液的配制 将噻苯隆的标准品用甲醇稀释成浓度为 10 mg/L 的标准储备液。再准确量取一定体积的噻苯隆标准储备溶液,并用甲醇稀释得到一定浓度噻苯隆标准溶液,于-20 ℃下保存。

1.3.2 样品处理 参照文献[11]中的前处理方法并稍作改进:称取 5.0 g 甜椒样品于 50.0 ml 离心管中,加入 10.0 ml 的 1%乙酸-乙腈溶液、1.0 g NaCl 和 500 mg 无水 MgSO₄,涡旋提取 5 min,5 000 r/min 离心 5 min 后取上清液 2 ml 于离心管中,再加入 100 mg PSA 填料的离心管中,涡旋提取 15 s,静置 1 min 后上清液过 0.22 μm 滤膜,待分析。

1.3.3 色谱条件 采用乙腈(A)和水溶液(B)作为

流动相,流速:0.2 ml/min;柱温:35 ℃;进样量:1 μl,梯度洗脱参数见表 1。

表 1 梯度洗脱参数

Table 1 Gradient elution parameters

时间 (min)	A (%)	B (%)
0	40	60
3.00	95	5
4.50	95	5
4.70	40	60
6.00	40	60

A:乙腈;B:水溶液。

1.3.4 质谱条件 参考文献[12]中噻苯隆的离子对条件,并根据实验室仪器的实际情况对各种电压进行相应的优化。优化后的相关参数为:ESI 离子源,负离子 MRM 模式;雾化气流速 55 L/min;辅助加热气流速 55 L/min;气帘气流速 20 L/min;喷雾电压-5 500 V;辅助加热气温度 550 ℃;噻苯隆定量离子 219.0/100.0,定性离子 219.0/71.1;去簇电压 -45 V;碰撞能量:-13,-48 V。

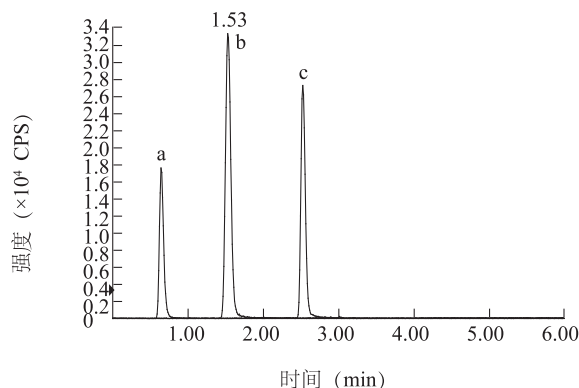
2 结果与讨论

2.1 流动相选择

本试验首先比较了甲醇-水和乙腈-水作为流动相时噻苯隆的峰形及其响应情况,结果(图 2)表明,利用乙腈-水作为流动相时噻苯隆的响应结果比甲醇-水好。其次,根据文献[13]报道,负离子模式下,在流动相中加入适量的氨水可以提高化合物的响应值,本试验也研究了加入氨水对噻苯隆的响应影响,结果(图 2)表明,加入氨水后,噻苯隆的出峰时间提前,且响应值反而降低,表明氨水的加入不一定会提高化合物的响应,这可能与化合物的结构等关系较大,具体原因还有待于进一步分析。因此,本研究最终选择乙腈-水作为流动相,在此条件下噻苯隆的出峰时间为 1.53 min,整个分析过程只需要 6.00 min,快速简单,且干扰较小。

2.2 线性范围和灵敏度

将噻苯隆用甲醇稀释成不同的浓度,利用峰面积分别对不同浓度的噻苯隆进行线性回归,同时采用空白甜椒基质添加噻苯隆标准溶液以考察检出限和定量限,以 3 倍和 10 倍信噪比分别确定检出限和定量限,结果表明,噻苯隆在 0.10~10.0 μg/L 的浓



a:乙腈-1%氨水溶液; b:乙腈-水溶液; c:甲醇-水。

图 2 噻苯隆在不同流动相中的色谱图

Fig. 2 The chromatogram of thidiazuron in different mobile phases

度内线性关系良好, $R^2 = 0.999\ 2$, 检出限为 0.05 μg/kg, 定量限为 0.20 μg/kg, 符合农药残留测定的要求。

2.3 回收率和精密度

根据甜椒的定量限,分别以 1 倍、5 倍和 10 倍定量限作为添加浓度进行回收试验,每个添加浓度做 6 次平行试验,结果(表 2)表明,噻苯隆在甜椒中的回收率为 90.5%~94.1%,相对标准偏差为 6.2%~7.3%,结果满足农药残留中对于回收率和相对标准偏差的要求。

表 2 噻苯隆在甜椒中的回收率和相对标准偏差

Table 2 The recovery and relative standard deviation of thidiazuron in pimiento

添加噻苯隆标准品浓度 (μg/kg)	回收率 (%)
0.20	90.5(7.3)
1.00	94.1(6.2)
2.00	93.8(6.5)

2.4 噻苯隆在甜椒中的残留消解动态

由表 3 可知,噻苯隆在甜椒中的消解率在前 2 d 之内迅速提高,到第 2 d 时达到最大消解率,随后又不断下降并保持稳定。

对表 3 中的消解率数据进行回归分析,得到噻苯隆的消解回归方程为 $Y = 0.227\ 8e^{-0.432\ 4x}$ ($R^2 = 0.983\ 2$),符合指数型降解规律,由回归方程得到噻苯隆的半衰期为 2.7 d,小于 30.0 d,属于易降解农药。

表 3 噻苯隆在甜椒的消解动态

Table 3 The degradation of thidiazuron in pimiento

时间 (d)	含量 (mg/kg)	消解率 (%)
0	0.153 0	—
1	0.108 0	29.41
2	0.052 9	51.02
3	0.037 6	28.92
5	0.025 9	31.12
7	0.018 7	27.80
10	<最低检出限	—

2.5 噻苯隆最终残留试验

试验结果表明,在 3 个测定时期(收获期前 5 d、7 d、14 d),各组均未检测出噻苯隆,表明在甜椒的采收期之前,噻苯隆已经完全降解并无残留,因此在甜椒的种植过程中合理使用噻苯隆是安全的。

2.6 甜椒实际样品的测定

随机选取昆明市的农贸市场和超市对甜椒进行抽样,共 20 个甜椒样品,通过测定,样品中均未检测出噻苯隆。

3 结 论

本研究利用超高效液相色谱-串联质谱快速测定了甜椒中噻苯隆残留,并研究了噻苯隆在甜椒中的消解动态和最终残留情况。在负离子 MRM 监测模式下,噻苯隆在 0.1~10.0 μg/L 的浓度内具有较好的线性,检出限为 0.05 μg/kg,定量限为 0.20 μg/kg,噻苯隆的回收率为 90.5%~94.1%,相对标准偏差为 6.2%~7.3%,该方法快速简单、准确度和精密度高;田间试验结果表明噻苯隆在甜椒中的消解半衰期为 2.7 d,属易降解性农药;最终残留试验结果表明,在采收期的甜椒中未检测出噻苯隆残留,

表明噻苯隆在甜椒上使用较为安全。

参考文献:

[1] 刘京涛,王秀芳,王滨杰,等. 噻苯敌草隆脱叶剂对棉花脱叶、吐絮效果试验[J]. 作物杂志, 2012(4): 141-143.

[2] HUETTEMAN C, PREECE J. Thidiazuron: a potent cytokinin for woody plant tissue culture[J]. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 1993, 33(2): 105-119.

[3] GUO B, ABBASI B, ZEB A, et al. Thidiazuron: a multi-dimensional plant growth regulator[J]. African Journal of Biotechnology, 2011, 10(45): 8984-9000.

[4] BOZDGAN A M, YARPUZ-BOZDGAN N. Determination of total risk of defoliant application in cotton on human health and environment[J]. Journal of Food, Agriculture & Environment, 2009, 7(1): 229-234.

[5] GB 2763-2014 食品中农药最大残留限量[S].

[6] 彭正学,曾 芸. HPLC 测定噻苯隆-敌草隆混合物[J]. 农药, 2012, 51(1): 37-38, 41.

[7] HU J Y, HU Y Q, CHEN Y, et al. High performance liquid chromatography method for residues analysis of thidiazuron in apple and soil[J]. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 2011, 87(4): 448-451.

[8] 赵 莉,马 青,马 琳,等. 高效液相色谱法测定葡萄中噻苯隆残留量[J]. 农药, 2013, 52(9): 666-667.

[9] HUANG Z, ZHANG Y, WANG L, et al. Simultaneous determination of 103 pesticide residues in tea samples by LC-MS/MS[J]. Journal of Separation Science, 2009, 32(9): 1294-1301.

[10] 谢 文,史颖珠,侯建波,等. 液相色谱-串联质谱法同时测定棉花中乙烯利、噻苯隆和敌草隆药物的残留量[J]. 色谱, 2014, 32(2): 179-183.

[11] 林 涛,邵金良,刘兴勇,等. QuEChERS-超高效液相色谱-串联质谱法测定蔬菜中 41 种农药残留[J]. 色谱, 2015, 33(3): 235-241.

[12] 乔成奎,黄玉南,罗 静,等. HPLC-MS/MS 法检测农药产品中 30 种隐性成分[J]. 农药, 2015, 54(5): 340-342, 345.

[13] 于慧娟,张珊珊,张晓玲,等. 同位素稀释-液相色谱-串联质谱法同时测定水产品中雌激素、孕激素和雄激素[J]. 质谱学报, 2014, 35(2): 170-178.

(责任编辑:陈海霞)