

刘景坤, 武春媛, 贾明明, 等. 液质联用法测定辣椒中噻虫嗪残留[J]. 江苏农业学报, 2016, 32(4): 934-938.
doi:10.3969/j.issn.1000-4440.2016.04.035

液质联用法测定辣椒中噻虫嗪残留

刘景坤^{1,2}, 武春媛^{1,2}, 贾明明^{1,3}, 邓晓^{1,2}, 吴东明^{1,4}, 李怡^{1,2}, 李勤奋^{1,2}

(1. 中国热带农业科学院环境与植物保护研究所, 海南 海口 571101; 2. 农业部儋州农业观测站, 海南 儋州 571737; 3. 华中农业大学, 湖北 武汉 430070; 4. 海南大学, 海南 海口 570228)

摘要: 为测定辣椒中的噻虫嗪残留, 选取乙腈为提取剂, 采用匀浆、超声波两种方法进行提取, 采用 SPE (NH₂) 柱、PSA 管两种净化方法进行样品净化, 分别比较不同提取及净化方法的基质效应及准确度。结果表明, 两种提取方法的基质效应都较小, 且无明显差异, 超声波法虽然方便、高效, 但加标回收率较低, 准确性较差无法满足要求; 虽然 SPE 柱净化较 PSA 管净化基质效应稍小, 但二者没有明显差异, 且 PSA 管净化回收率略高, 因此选取操作简便、高效率的 PSA 净化方法。标准曲线在 0.005~0.500 μg/ml 线性关系良好, $R^2 = 0.9997$, 该方法检出限为 0.008 μg/g, 能够准确进行实际样品检测。

关键词: 噻虫嗪; 液质联用; 基质效应; 回收率

中图分类号: X836 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4440(2016)04-0934-05

A LC-MS method for detection of thiamethoxam residue in pepper

LIU Jing-kun^{1,2}, WU Chun-yuan^{1,2}, JIA Ming-ming^{1,3}, DENG Xiao^{1,2}, WU Dong-ming^{1,4}, LI Yi^{1,2}, LI Qin-fen^{1,2}

(1. Environment and Plant Protection Institute, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Haikou 571101, China; 2. Danzhou Scientific Observing and experimental Station of Agro-environment, Ministry of Agriculture, Danzhou 571737, China; 3. Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China; 4. Hainan University, Haikou 570228, China)

Abstract: The LC-MS/MS equipment was used for the detection of thiamethoxam residue in the peppers. The matrix effect (ME) was studied, and the extraction methods of homogenization and ultrasonic, the purifications with SPE columns and PSA tubes were compared using acetonitrile as extraction solution. No matrix effect was detected. In spite of simple operation and high efficiency, ultrasonic extraction is outperformed by homogenized extraction in spiked recovery. PSA tubes were selected in purification over SPE column due to faster operation and less organic solvent. By applying homogenized extraction and PSA tube purification in the pre-treatment, LC-MS accurately detected the thiamethoxam in pepper with detect limit of 0.008 μg/g.

Key words: thiamethoxam; LC-MS; matrix effect; recovery

收稿日期: 2015-11-16

基金项目: 中央级公益性科研院所基本科研业务费项目 (2015hzz1J026); 公益性行业 (农业) 科研专项经费项目 (201503107)

作者简介: 刘景坤 (1986-), 男, 山东临沭人, 硕士, 助理研究员, 研究方向为农产品质量安全与农业环境保护。
(Tel) 0898-66969272; (E-mail) liujk918@163.com

通讯作者: 李勤奋, (E-mail) qinfenli2005@163.com

噻虫嗪是诺华公司研发的第二代新烟碱类杀虫剂, 对害虫具有胃毒、触杀和内吸活性, 作用机理与吡虫啉类似, 活性高、安全性强、杀虫谱广^[1-3], 可有效防治各种叶蝉、蚜虫、飞虱等刺吸式害虫, 是高毒、高残留的有机磷、有机氯农药较好的替代品种^[4-5]。虽然噻虫嗪毒性及残留水平较低, 但是长期使用仍会造成残留积累甚至超标等

现象,不免会对人们身体健康和生态环境造成危害。2013 年欧盟禁用了包括噻虫嗪在内的 3 种新烟碱类农药在某些作物上的应用,以保护蜜蜂种群,维护生态系统的平衡^[6]。

辣椒是深受消费者喜爱的常见蔬菜,在种植过程中会发生蚜虫、叶蝉、白粉虱等虫害,噻虫嗪能够有效防治这些虫害,但是长期使用会造成噻虫嗪在辣椒中的残留及在土壤中的积累,给辣椒的质量安全带来隐患。因此,建立对辣椒中噻虫嗪高效、快速、准确的检测方法,对于保证其质量安全具有重要意义。由于辣椒中富含色素、多种维生素、辣椒素等物质,给农药残留的检测造成较大干扰。已有关于茶叶、棉花、环境等样品噻虫嗪残留检测的报道^[7-9],但关于辣椒中噻虫嗪残留检测的报道较少,因此建立准确、高效、快捷的残留前处理及检测技术对保证辣椒质量安全具有重要意义。

1 材料与方法

1.1 材料和试剂

选取的辣椒有绿色及红色朝天椒、绿色及黄色灯笼椒^[10-11]、牛角椒,本地超市购买。乙腈(色谱纯)、甲酸(色谱纯)、氨水(色谱纯)、氯化钠(分析纯)均购自国药集团化学试剂厂,超纯水自制,CNWBOND NH₂-SPE 萃取柱购自上海安谱公司,噻虫嗪标准品购自 Sigma 公司。

1.2 仪器

液质联用仪(TQS-Micro, Waters 公司产品)、高速匀浆机(T18, IKA 公司产品)、组织粉碎机(SH-720, Ashoo 公司产品)、紫外-可见分光光度计(UV-2600, 岛津公司产品)、旋转蒸发仪(RE-2000, 上海亚荣公司产品)、万分之一天平(AUX220, 岛津公司产品)。

1.3 液质条件

1.3.1 色谱柱及流动相 ACQUITY UPLC® BEH C18 系列液相色谱柱(1.7 μm, 50 mm × 4 mm),用不同配比的乙腈和超纯水(0.01%甲酸+0.05%氨水)(表 1)为流动相,流速 0.4 ml/min,柱温 30 ℃。

1.3.2 质谱条件的确定 用乙腈水(体积比=1:1)配制 0.1 μg/ml 噻虫嗪标准溶液直接进样,ESI+离子化,毛细管电压 3.0 kV,喷雾气体 600 L/h,母离

子为 M⁺ = 291.7,定量离子 211,锥孔电压 40 V,碰撞能量 10 eV;定性离子 181,锥孔电压 45 V,碰撞能量 25 eV,两个子离子丰度比 R₂₁₁/R₁₈₁ = 6.3。

表 1 流动相梯度

Table 1 The gradient of the mobile phase

时间(min)	乙腈比例(%)	水比例(%)
0	20	80
3.2	80	20
4.0	20	80

1.3.3 标准曲线制作 称取 10.00 mg 噻虫嗪标准品用乙腈溶解,定容至 100.00 ml,作为标准储备液,使用时根据需要用乙腈溶液或者空白样品处理液稀释储备液配制系列浓度为 0.005 μg/ml、0.010 μg/ml、0.020 μg/ml、0.050 μg/ml、0.100 μg/ml、0.200 μg/ml、0.500 μg/ml 的标准溶液用来制作标准曲线。

1.4 样品处理

1.4.1 待测及空白样品的提取 参照噻虫嗪在甘蓝中的最大残留限量(MRL)0.2 mg/kg 及在黄瓜中的最大残留限量 0.5 mg/kg^[12],设定 3 个加标浓度为 0.05 mg/kg、0.20 mg/kg、1.50 mg/kg。将绿色及红色朝天椒、绿色及黄色灯笼椒、牛角椒进行等质量混合,粉碎匀浆,称取 25.00 g,加入 40 ml 乙腈,用匀浆法和超声波法 2 种方法提取。匀浆法:高速匀浆 1 min;超声波法:浸泡 10 min 后超声 20 min。处理后浓缩、净化的步骤相同。

1.4.2 待测及空白样品浓缩与净化 方法一:提取后的混合物过滤至盛有 6 g NaCl 的 100 ml 具塞试管中,剧烈振荡 1 min,静置 15 min 后吸取上清液 10 ml,旋蒸至近干,用二氯甲烷-甲醇(99:1)混合液定容至 5 ml。用二氯甲烷-甲醇(99:1)混合液预淋洗 NH₂-SPE 萃取柱,将上述提取液加入萃取柱后收集淋洗液,再用 15 ml 混合液洗涤、淋洗。将混合液蒸发至近干后用甲醇复溶,定容至 2 ml,待测。方法二:将提取后的混合物过滤至盛有 6 g NaCl 和 4 g 无水硫酸镁的具塞试管中,混匀 1 min,取上清液 15 ml 加入 PSA 净化管,加塞混匀 1 min,静置 5 min,取上清 10 ml 旋蒸至近干(或不经旋蒸直接过滤),用甲醇溶解,定容至 2 ml,过滤待测。

2 结果与分析

2.1 不同提取方法的基质效应比较

分别采用匀浆法和超声波法提取空白样品,经过 SPE 柱浓缩、净化、复溶后得到提取液,用此提取液配制系列标准液来比较 2 种提取方法的基质效应 (ME) (表 2)。从表 2 中可以看出,2 种方法的整体基质效应都较小 ($80\% < ME < 95\%$),对待测物的离子化影响可以忽略。但当待测物浓度越大时,2 种方法的基质效应均有明显的增加趋势。

表 2 不同提取方法的基质效应比较

Table 2 The matrix effect (ME) by using two extraction methods

噻虫嗪浓度 ($\mu\text{g/ml}$)	超声波法		匀浆法	
	$ME(n=5)(\%)$	$RSD(\%)$	$ME(n=5)(\%)$	$RSD(\%)$
0.005	91.8	2.82	91.0	3.73
0.010	94.0	4.76	91.8	3.02
0.020	88.8	2.17	91.6	3.98
0.050	85.8	4.83	86.6	4.66
0.100	84.6	3.51	82.8	3.86
0.200	83.2	4.98	81.4	4.56
0.500	81.4	3.54	79.2	5.81

$ME = B/A \times 100\%$, 式中 A 为纯溶剂配制的噻虫嗪标准溶液峰面积, B 为空白辣椒提取液配制的噻虫嗪标准溶液峰面积。

2.2 不同提取方法的回收率比较

对空白样品分别按照匀浆提取-SPE 柱净化和超声波提取-SPE 柱净化处理,使用提取液配制系列标准溶液制作标准曲线。将加标的样品按照相同的处理方法进行提取、净化,比较 2 种提取方法的回收率(表 3)。匀浆方法回收率高于超声波法,达到 75%~95%;超声波法回收率较低,1.50 mg/kg 添加浓度的回收率不足 70%。因此匀浆法更适宜用于样品的提取。

匀浆和超声波 2 种提取方法的整体基质效应都很低,对结果的影响可以忽略。超声波法虽然具有批次样品可一并处理、效率高、试剂挥发对试验操作人员的伤害小等实用性优势,但回收率低,而匀浆法回收率高,能满足农残检测的相关指标要求,因此选择匀浆法进行样品提取。

2.3 不同净化方法的基质效应比较

采用匀浆法提取空白样品后分别用 SPE 柱和

PSA 管进行浓缩和净化处理,比较 2 种净化方法的基质效应(表 4)。2 种方法净化后的基质均存在对待测物的离子抑制效应,PSA 净化相对于 SPE 净化的基质效应稍强,但 2 种方法整体的基质效应均较低,对结果的影响很小,可以忽略,因此 2 种方法均可用来进行净化。

表 3 不同提取方法样品加标回收率比较

Table 3 The spiked recoveries of samples by two extraction methods

提取方法	加标浓度 (mg/kg)	平均加标回收率 ($\%$)	$RSD(\%)$ ($n=3$)
匀浆	0.05	93.11	2.90
	0.20	83.30	5.52
	1.50	76.63	4.66
超声波	0.05	81.67	4.20
	0.20	70.77	1.73
	1.50	69.06	4.27

表 4 不同净化方法的基质效应比较

Table 4 The matrix effect (ME) by two purification methods

噻虫嗪浓度 ($\mu\text{g/ml}$)	SPE 柱		PSA 管	
	$ME(n=5)(\%)$	$RSD(\%)$	$ME(n=5)(\%)$	$RSD(\%)$
0.005	91.0	3.73	90.9	2.62
0.010	91.8	3.02	90.2	2.87
0.020	91.6	3.98	85.1	4.09
0.050	86.6	4.66	83.7	3.78
0.100	82.8	3.86	82.6	5.33
0.200	81.4	4.56	79.4	3.62
0.500	79.2	5.81	77.5	4.01

$ME = B/A \times 100\%$, 式中 A 为纯溶剂配制的噻虫嗪标准溶液峰面积, B 为空白辣椒提取液配制的噻虫嗪标准溶液峰面积。

2.4 不同净化方法的回收率比较

对空白样品分别按照匀浆提取-SPE 柱净化和匀浆提取-PSA 管净化处理,用处理后的提取液配制系列标准溶液制作标准曲线。将加标样品按照与空白样品相同的处理方法进行提取、净化,比较 2 种净化方法的回收率(表 5)。2 种方法回收率均在 75%~100%,净化效果均较佳。二者比较,PSA 法回收率高于 SPE 法。

2 种净化方法处理的样品基质效应均较小,可

以忽略,2种方法的回收率均较高,位于75%~100%,均符合农药残留检测方法的相关要求。但PSA法的操作步骤少,操作简单,准确性更高,因此,选择PSA法进行样品净化。

2.5 噻虫嗪离子流图及标准校正曲线

按照上述优化的前处理及建立的色谱-质谱条件得到噻虫嗪总离子流、定量及定性离子流图和校准曲线(图1、图2),噻虫嗪在约0.53 min处出峰,3 min以内完成分析, R^2 为0.999 7,在0.005~0.500 $\mu\text{g/ml}$ 线性关系良好,检出限0.008 $\mu\text{g/g}$ 。

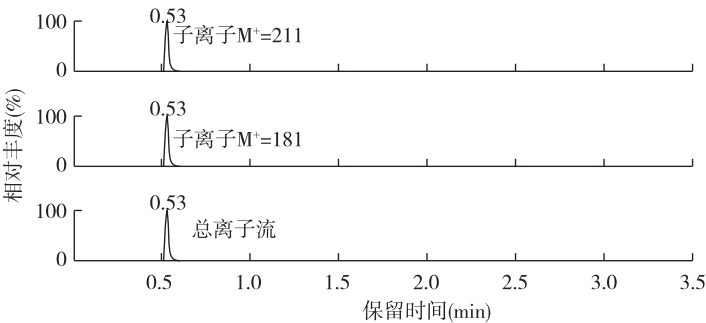


图1 噻虫嗪离子及总离子流图
Fig.1 Daughter and total ionic chromatography of thiamethoxam

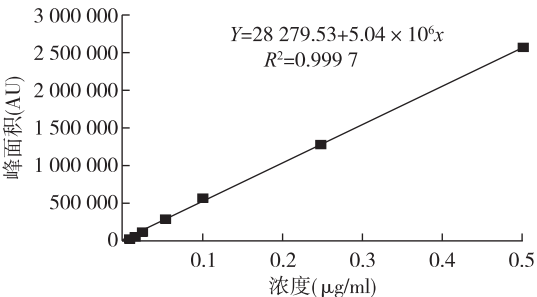


图2 噻虫嗪校正曲线
Fig.2 Calibration curve of thiamethoxam

3 讨论

比较高速匀浆和超声波2种提取方法,匀浆法回收率较高,可能是由于高速匀浆对植物组织的破坏更为彻底,溶出了更多组分,但2种方法的基质效应均较小,对待测物的离子抑制效应均可以忽略,超声波法虽然具有操作简便、效率高、对试验人员危害较小等优点,但是回收率偏低,部分残留浓度的回收率不满足检测要求。SPE柱和PSA管2种净化方

表5 不同净化方法样品加标回收率比较
Table 5 The spiked recovery of sample by two purification methods

净化方法	加标浓度 (mg/kg)	平均加标回收率 (%)	RSD(%) (n=3)
PSA柱	0.05	98.33	6.76
	0.20	88.03	2.61
	1.50	76.17	4.90
SPE管	0.05	93.11	2.90
	0.20	83.30	5.52
	1.50	76.63	4.66

法,对于辣椒这类色素、辣椒碱等基质较为丰富的样品,均能够较为彻底地净化,样品的基质效应均较低,可以忽略,而且回收率达到75%~100%,适合作为样品的净化方法。但PSA方法步骤较为简单,操作方便,而且PSA方法使用的有机溶剂种类较少,无需浓缩,对操作人员的危害更小,实验废液排放较少,处理速度更快,更有优势。因此,本研究建立了乙腈匀浆提取和PSA管净化的高效、方便、安全的噻虫嗪残留液相色谱-质谱联用的检测方法,对于食品安全监测和环境保护具有重要意义。

参考文献:

[1] 陶贤鉴,黄超群,罗亮明.新一代烟碱类杀虫剂-噻虫嗪的合成研究[J].现代农药,2006,5(1):11-13.
[2] 王险峰.进口农药应用手册[M].北京:中国农业出版社,2000:61-63.
[3] 潘虹,顾爱国,孙长恩,等.22%高效氯氟氰菊酯·噻虫嗪微囊悬浮-悬浮剂的高效液相色谱分析方法[J].江苏农业科学,2015,43(8):302-303.
[4] 刘宾,郭栋梁,毛江胜,等.菠菜中噻虫嗪的残留检测与消

- 解动态[J]. 农药, 2009, 49(9):667-674.
- [5] 毛江胜, 张红, 孟静静. 吡虫啉在水稻中的残留动态研究[J]. 现代农药, 2006, 5(2): 27-29.
- [6] 项栋梁. 噻虫嗪也会是氟虫腈的命? [J]. 农药市场信息, 2013, 14(44):28-29.
- [7] KRISTENSEN M, JESPERSEN J B. Thiamethoxam induced mouse liver tumors and their relevance to humans part 1: Mode of action studies in the mouse[J]. Pest Management Science, 2008, 86(1):36-47.
- [8] ZHANG Q, DING Y, XIAO J, et al. Sensitive determination of thiamethoxam, imidacloprid and acetamiprid in environmental water samples with solid-phased extraction packed with multi-walled carbon nano-tubes prior to high performance liquid[J]. Analytical and Bio-analytical Chemistry, 2006, 385(8):1520-1525.
- [9] CAMPBELL S, CHEN L, YU J, et al. Adsorption and analysis of the insecticides thiamethoxam and indoxacarb in Hawaiian soils [J]. Journal of Agriculture and Food Chemistry, 2005, 53(13): 5373-5376.
- [10] 李海龙, 张俊清, 赖伟勇, 等. 海南黄灯笼椒与不同品种辣椒的辣椒素含量测定[J]. 中国野生植物资源, 2012, 31(4): 32-34.
- [11] 李洪福, 李海龙, 王勇, 等. 海南黄灯笼辣椒不同提取物化学成分 GC-MS 分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(8): 129-133.
- [12] GB 2763—2012 食品安全国家标准: 食品中农药最大残留限量[S].

(责任编辑:张震林)