

超高效液相色谱-四极杆-飞行时间质谱法 快速筛查农药制剂中非法添加的化学杀菌剂

陈建波 吴爱娟 赵莉 黄兰淇 马琳 占绣萍*

(上海市农业技术推广服务中心, 上海 201103)

摘 要 建立了超高效液相色谱-四极杆-飞行时间质谱法(UPLC-Q-TOF MS)快速筛查农药制剂中 35 种非法添加化学杀菌剂的方法。农药制剂样品经甲醇超声溶解提取后, 采用 Zorbax C₁₈ 色谱柱(100 mm×1.8 mm, 2.1 μm)进行分离, 以 0.1% 甲酸-乙腈作为流动相进行梯度洗脱, 采用正离子全扫描模式进行分析。在所建立的条件下, 35 种杀菌剂在 0.2, 0.4 和 2.0 mg/kg 水平下的添加回收率为 81.0% ~ 101.3%, 相对标准偏差为 1.0% ~ 4.4%。在 100 份样品有 6 份样品中筛查出添加了化学杀菌剂, 并进行了含量分析。本方法分析效率高, 结果准确可靠, 适用于农药制剂中非法添加化学杀菌剂的定性筛查。

关键词 超高效液相色谱-四极杆-飞行时间质谱; 筛查; 化学杀菌剂; 非法添加; 农药制剂

1 引言

非法添加成分是指在农药制剂中人为添加标称有效成分以外的农药成分^[1], 我国对农药实行严格的登记管理, 根据相关法规, 除标称有效成分以外的其它有效成分均视为非法添加, 可导致农产品农药残留超标、作物药害、环境污染等。近年来, 因使用了含有非法添加化学农药引起农产品残留超标、农作物药害的现象时有发生, 引起了高度关注。

目前, 有约 1100 种农药应用于农业生产中^[2], 现有的检测方法主要是已知有效成分的含量检测^[3]。针对非法添加成分的检测方法有 GC-MS^[4]、LC-MS/MS^[5]及其它方法^[6]。GC-MS 不适用于在高温下容易分解或难气化的农药, LC-MS/MS 灵敏度高, 选择性和特异性好, 但不能测定化合物的精确分子量, 无法建立标准化的质谱数据库, 无法对非特定的目标化合物进行定性筛查^[7]。超高效液相色谱-四极杆-飞行时间质谱法(UPLC-Q-TOF MS)可依据所测得的化合物及碎片的精确质量进行分析^[8], 并且可以建立标准化的质谱数据库, 提高了定性筛查的效率和可靠性。目前, UPLC-Q-TOF MS 广泛应用于中药^[9]、水产品^[10,11]、食品^[12~14]、饲料^[15]、兽药^[16~18]、水和环境^[19~21]等领域。目前尚未有 UPLC-Q-TOF MS 方法应用于制剂中非法添加化学杀菌剂的文献报道。本研究建立了对农药制剂中 35 种化学杀菌剂的 UPLC-Q-TOF MS 快速筛查的方法, 可在较短时间内对 35 种化学杀菌剂进行筛查。本方法具有筛查速度快、结果准确可靠等特点, 可以应用于农药制剂中非法添加化学杀菌剂的定性筛查, 为相关的监管部门提供技术支持。

2 实验部分

2.1 仪器与试剂

1290 超高效液相色谱/6530 四极杆-飞行时间质谱仪(美国 Agilent 公司); 分析天平(瑞士 Metler Toledo 公司); 离心机; Millipore 超纯水机(美国 Millipore 公司)。

实验用 35 种杀菌剂标准品(纯度>97.0%, 德国 Dr. Ehrenstorfer GmbH 公司); 乙腈、甲醇(LC-MS 纯试剂, 德国 Merck 公司); 甲酸(优级纯); 实验用水为超纯水。实际样品均从市场抽取。

2.2 标准溶液的配制

称取 10 mg 标准品, 用甲醇溶解并定容至 10 mL, 配制成 1000 mg/L 的单标准储备溶液。

2016-10-17 收稿; 2016-12-22 接受

本文系上海市农委青年成长计划项目(No. 2016-4-2)资助

* E-mail: zxp19830124@aliyun.com

2.3 样品处理方法

称取约 0.2 g 样品, 以少量甲醇溶解, 超声 10 min, 冷却到室温, 再用甲醇定容至 100 mL, 转移至离心管中, 以 3500 r/min 离心 5 min, 吸取 2 mL 上清液至 50 mL 容量瓶中, 加入 25 mL 乙腈, 用水定容至 50 mL, 过 0.22 μm 滤膜, 进样测定。

2.4 实验条件

色谱条件: Agilent Zorbax C₁₈ 色谱柱 (100 mm×1.8 mm, 2.1 μm); 流动相由 0.1% (V/V) 甲酸(A) 和乙腈(B) 组成; 梯度洗脱程序: 0~3 min, 10%~40% B; 3~7 min, 40%~90% B; 7~12 min, 90% B; 12~12.5 min, 90%~10% B。流速为 0.3 mL/min; 柱温 35℃, 进样量为 2 μL。

质谱条件: 离子源: 电喷雾 (ESI) 源, 正离子模式; 扫描范围: 一级质谱 m/z 150~500, 二级质谱 m/z 50~500; 雾化气: 氮气; 雾化气流量: 11 L/min; 喷雾气压力: 50 psi; 干燥气温度 300℃; 毛细管电压: 3500 V; 碎裂电压 140 V; 二级质谱碰撞能量分别为: 5, 10, 20 和 40 V。35 种杀菌剂的精确质量数、质量偏差、保留时间等信息见表 1。

表 1 35 种杀菌剂的分子式、保留时间、理论分子量、实测分子量和质量偏差
Table 1 Molecular formulas, retention time, theoretical molecular weight, measured molecular weight and mass error of 35 kinds of fungicides

杀菌剂名称 Fungicide compound	分子式 Molecular formula	保留时间 Retention time (min)	理论分子量 Theoretical molecular weight	实测分子量 Measured molecular weight	质量偏差 Mass error	
					mDa	×10 ⁻⁶
醚菌酯 Kresoxim-methyl	C ₁₈ H ₁₉ NO ₄	6.944	314.1387	314.1390	0.3	1.0
福美双 Thiram	C ₆ H ₁₂ N ₂ S ₄	5.222	240.9956	240.9960	0.4	1.7
氟唑菌酰胺 Fluxapyroxad	C ₁₈ H ₁₂ F ₅ N ₃ O	6.215	382.0973	382.0978	0.5	1.3
三唑醇 Triadimenol	C ₁₄ H ₁₈ ClN ₃ O ₂	5.770	296.1160	296.1165	0.5	1.7
乙霉威 Diethofencarb	C ₁₄ H ₂₁ NO ₄	6.059	268.1543	268.1546	0.3	1.1
烯酰吗啉 Dimethomorph	C ₂₁ H ₂₂ ClNO ₄	5.781	388.1310	388.1315	0.5	1.3
噁霉灵 Hymexazol	C ₄ H ₅ NO ₂	1.796	100.0393	100.0397	0.4	4.0
氟吡菌胺 Fluopicolide	C ₁₄ H ₈ C ₃ F ₃ N ₂ O	6.407	382.9727	382.9728	0.1	0.3
甲基硫菌灵 Thiophanate-methyl	C ₁₂ H ₁₄ N ₄ O ₄ S ₂	4.679	343.0529	343.0531	0.2	0.6
肟菌酯 Trifloxystrobin	C ₂₀ H ₁₉ F ₃ N ₂ O ₄	7.500	409.1370	409.1371	0.1	0.2
苯醚甲环唑 Difenconazole	C ₁₉ H ₁₇ Cl ₂ N ₃ O ₃	6.963	406.0720	406.0721	0.1	0.2
腈菌唑 Myclobutanil	C ₁₅ H ₁₇ ClN ₄	6.139	289.1215	289.1216	0.1	0.3
多菌灵 Carbendazim	C ₉ H ₉ N ₃ O ₂	1.883	192.0768	192.0767	-0.1	-0.5
氟环唑 Epoxiconazole	C ₁₇ H ₁₃ ClFN ₃ O	6.216	330.0804	330.0807	0.3	0.9
粉唑醇 Flutriafol	C ₁₆ H ₁₃ F ₂ N ₃ O	5.035	302.1099	302.1100	0.1	0.3
三唑酮 Triadimefon	C ₁₄ H ₁₆ ClN ₃ O ₂	6.258	294.1004	294.1007	0.3	1.0
萎锈灵 Carboxin	C ₁₂ H ₁₃ NO ₂ S	5.247	236.0740	236.0742	0.2	0.8
吡唑醚菌酯 Pyraclostrobin	C ₁₉ H ₁₈ ClN ₃ O ₄	7.215	388.1059	388.1059	0	0.0
啉菌酯 Azoxystrobin	C ₂₂ H ₁₇ N ₃ O ₅	6.174	404.1241	404.1246	0.5	1.2
丙环唑 Propiconazole	C ₁₅ H ₁₇ Cl ₂ N ₃ O ₂	6.728	342.0771	342.0771	0	0.0
三环唑 Tricyclazole	C ₉ H ₇ N ₃ S	3.576	190.0433	190.0433	0	0.0
烯唑醇 Diniconazole	C ₁₅ H ₁₇ Cl ₂ N ₃ O	6.709	326.0821	326.0824	0.3	0.9
稻瘟灵 Isoprothiolane	C ₁₂ H ₁₈ O ₄ S ₂	6.622	291.0719	291.0721	0.2	0.7
氟硅唑 Flusilazole	C ₁₆ H ₁₅ F ₂ N ₃ Si	6.383	316.1076	316.1078	0.2	0.6
噁霜灵 Oxadixyl	C ₁₄ H ₁₈ N ₂ O ₄	4.410	279.1339	279.1342	-0.3	1.0
咪鲜胺 Prochloraz	C ₁₅ H ₁₆ Cl ₃ N ₃ O ₂	5.996	376.0381	376.0383	0.2	0.5
戊唑醇 Tebuconazole	C ₁₆ H ₂₂ ClN ₃ O	6.377	308.1524	308.1528	0.4	1.3
戊菌唑 Penconazole	C ₁₃ H ₁₅ Cl ₂ N ₃	6.555	284.0716	284.0720	0.4	1.4
啉啉菌胺 Ametoctradin	C ₁₅ H ₂₅ N ₅	6.004	276.2183	276.2186	0.3	1.1
啉啉菌胺 Boscalid	C ₁₈ H ₁₂ Cl ₂ N ₂ O	6.300	343.0399	343.0404	0.5	1.5
甲霜灵 Metalaxyl	C ₁₅ H ₂₁ NO ₄	5.258	280.1543	280.1543	0	0.0
噻菌灵 Thiabendazole	C ₁₀ H ₇ N ₃ S	2.051	202.0433	202.0433	0	0.0
抑霉唑 Imazalil	C ₁₄ H ₁₄ Cl ₂ N ₂ O	4.246	297.0556	297.0557	0.1	0.3
啉啉菌胺 Pyrimethanil	C ₁₂ H ₁₃ N ₃	4.978	200.1182	200.1181	-0.1	-0.5
霜霉威 Propamocarb	C ₉ H ₂₀ N ₂ O ₂	1.602	189.1598	189.1597	-0.1	-0.5

2.5 数据库的建立

2.5.1 一级质谱数据库的建立 采用 Agilent 公司的 PCDL 软件建立了 35 种杀菌剂的一级质谱数据库。对化合物先进行一级质谱全扫描,获得目标化合物的保留时间、精确质量数等信息,通过在 PCDL 软件中输入每种化合物的分子式、CAS 号和保留时间等信息,建立了 35 种杀菌剂的一级精确质量数据库。

2.5.2 二级质谱数据库的建立 将目标物精确质量母离子在不同碰撞能量下(5, 10, 20 和 40 V)进行二级质谱测定,采集二级质谱数据库所需要的子离子信息,通过 PCDL 软件,建立化合物的二级质谱数据库,二级质谱数据库中包括不同碰撞能量下二级质谱全扫描质谱图。

2.6 含量检测

本实验采用 UPLC-Q-TOF MS 对制剂中的杀菌剂进行定性筛查,确证出非法添加的杀菌剂,然后对确证的杀菌剂参考国家标准或方法进行定量检测。

3 结果与讨论

3.1 液相色谱条件的优化

考察了流动相组成对色谱分离、灵敏度和离子化效率的影响。一般情况下,检测农药常用乙腈-水或甲醇-水两种混合溶剂体系作为流动相。实验结果表明,使用乙腈-水作流动相,响应值高于以甲醇-水为流动相,并且乙腈-水体系的压力较低,有利于色谱柱的寿命和仪器系统的保护。同时考察了甲酸对分离、灵敏度、离子化效率的影响,结果表明,在水相中加入 0.1% (V/V) 甲酸,有助于提高化合物的离子化效率,从而提高灵敏度。因此,本实验选择乙腈-0.1% (V/V) 甲酸溶液作为流动相。

3.2 质谱条件的优化

经过优化,在 ESI⁺ 模式下,35 种杀菌剂的准分子离子均为 $[M+H]^+$ 。在进行二级质谱数据库的检索时,低碰撞能量的质谱图有利于判断主要碎片,高碰撞能量的质谱图可以得到更多质谱碎片细节,能够提高对化合物定性的准确性。因此,每种杀菌剂均采集 4 个不同碰撞能量(5, 10, 20 和 40 V)下的二级质谱图。

在优化的色谱-质谱条件下,35 种杀菌剂在 10 min 内都能得到分离。尽管有些化合物的保留时间比较接近或者重合,但由于各化合物质荷比不同,高分辨质谱能较容易区分开。图 1 为 35 种杀菌剂的总离子流图。

3.3 定性筛查和含量检测

先对采集到的一级质谱图进行数据库自动检索,综合评分,将得分 ≥ 85 的杀菌剂确定为疑似阳性样品。然后对疑似阳性样品再次进样测定进行二级质谱扫描,将采集到的二级质谱图进行二级质谱数据库自动检索并综合评分,将得分 ≥ 75 的确定为阳性样品。

农药制剂中成分的含量检测为常量分析,对准确性要求比较高。经过实验比较,虽然 UPLC-Q-TOF MS 的定性筛查能力很强,但是定量分析准确性却不及常规气相色谱法或液相色谱法,因此采用 UPLC-Q-TOF MS 定性分析,色谱法定量分析。

3.4 方法学考察

3.4.1 线性关系、检出限、加标回收率 配制 0.2 ~ 20 mg/L 范围的标准溶液,以准分子离子作为定量离子,在优化的色谱和质谱条件下进行测定,以提取离子色谱图的峰面积(Y)为纵坐标、浓度(X, mg/L)为横坐标进行线性回归分析。结果表明,35 种杀菌剂的线性相关系数 $R^2 > 0.99$ 。

检出限是以一级质谱数据库检索得分 ≥ 85 且二级质谱数据库检索得分 ≥ 75 的最低质量浓度作为本方法的检出限(LOD),由于定量分析不采用 UPLC-Q-TOF MS 法,故未作讨论。选取 0.2, 0.4 和 2.0 mg/kg 3 个添加水平,每个水平重复测定 3 次,平均添加回收率为 81.0% ~ 101.3%,相对标准偏差为 1.0% ~ 4.4%,结果见表 2。

3.4.2 质谱数据库检索的可靠性验证 在未含所选 35 种杀菌剂的农药制剂样品中添加标准溶液,所添加的浓度与 3.4.1 节中回收率实验添加的浓度一致,然后进行数据采集和谱库检索,检索得分见表 2。从表 2 可见,所建立的方法符合定性筛查的要求。

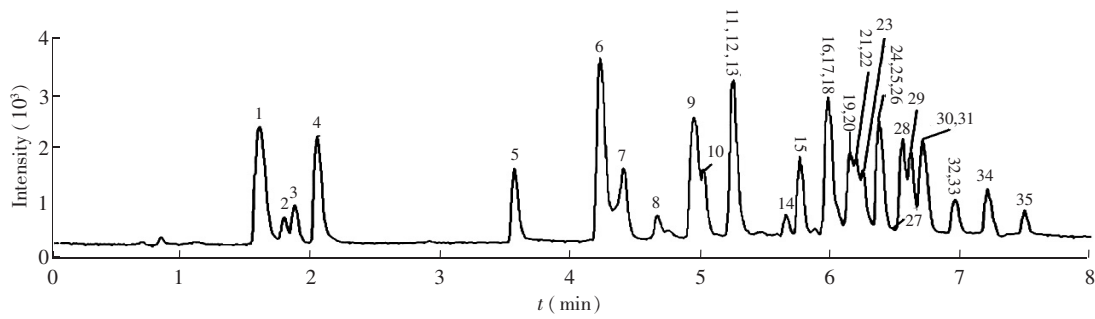


图 1 35 种杀菌剂的总离子流图

1. 霜霉威, 2. 噁霉灵, 3. 多菌灵, 4. 噻菌灵, 5. 三环唑, 6. 抑霉唑, 7. 噁霜灵, 8. 甲基硫菌灵, 9. 啉菌胺, 10. 粉唑醇, 11. 福美双, 12. 萎锈灵, 13. 甲霜灵, 14. 烯酰吗啉, 15. 三唑醇, 16. 咪鲜胺, 17. 啉啉菌胺, 18. 乙霉威, 19. 腈菌唑, 20. 啉菌酯, 21. 氟唑菌酰胺, 22. 氟环唑, 23. 三唑酮, 24. 啉酰菌胺, 25. 戊唑醇, 26. 氟硅唑, 27. 氟吡菌胺, 28. 戊菌唑, 29. 稻瘟灵, 30. 烯唑醇, 31. 丙环唑, 32. 醚菌酯, 33. 苯醚甲环唑, 34. 吡唑醚菌酯, 35. 肟菌酯。

Fig. 1 Total ion current (TIC) chromatogram of 35 kinds of fungicide

1. Propamocarb, 2. Hymexazol, 3. Carbendazim, 4. Thiabendazole, 5. Tricyclazole, 6. Imazalil, 7. Oxadixyl, 8. Thiophanate-Methyl, 9. Pyrimethanil, 10. Flutriafol, 11. Thiram, 12. Carboxin, 13. Metalaxyl, 14. Dimethomorph, 15. Triadimenol, 16. Prochloraz, 17. Ametoctradin, 18. Diethofencarb, 19. Myclobutanil, 20. Azoxystrobin, 21. Fluxapyroxad, 22. Epoxiconazole, 23. Triadimefon, 24. Boscalid, 25. Tebuconazole, 26. Flusilazole, 27. Fluopicolide, 28. Penconazole, 29. Isoprothiolane, 30. Diniconazole, 31. Propiconazole, 32. Kresoxim-Methyl, 33. Difenoconazole, 34. Pyraclostrobin, 35. Trifloxystrobin

表 2 35 种杀菌剂的检出限、添加回收率、相对标准偏差 (n=3) 和检索分数

Table 2 Limits of detection (LODs), recovery, relative standard deviation (RSDs) (n=3) and searching scores of 35 kinds of fungicides

化合物名称 Compound	LOD (mg/kg)	添加回收率 Recovery						检索分数 Searching scores					
		0.2 (mg/kg)		0.4 (mg/kg)		2.0 (mg/kg)		0.2 (mg/kg)		0.4 (mg/kg)		2.0 (mg/kg)	
		Recovery (%)	RSD (%)	Recovery (%)	RSD (%)	Recovery (%)	RSD (%)	TOF	Q-TOF	TOF	Q-TOF	TOF	Q-TOF
醚菌酯 Kresoxim-methyl	0.08	88.9	1.2	87.3	2.0	86.6	1.5	96.5	79.2	93.0	87.1	99.6	87.8
福美双 Thiram	0.09	83.0	2.4	87.4	2.9	91.5	1.3	98.4	77.8	99.4	79.1	98.5	85.8
氟唑菌酰胺 Fluxapyroxad	0.07	88.6	2.7	93.7	2.4	92.2	1.8	99.5	80.1	99.3	78.9	99.5	94.1
三唑醇 Triadimenol	0.08	85.1	2.1	87.0	1.8	87.9	1.2	86.5	75.6	89.0	83.2	93.2	89.0
乙霉威 Diethofencarb	0.06	99.9	2.0	94.2	2.5	98.3	1.5	85.6	76.3	97.8	72.2	99.2	90.9
烯酰吗啉 Dimethomorph	0.06	93.0	1.4	95.7	3.2	95.1	1.9	90.5	85.2	99.8	87.1	99.5	91.8
噁霉灵 Hymexazol	0.08	84.1	1.8	85.3	1.8	82.5	1.6	86.2	76.4	87.8	79.6	98.5	95.0
氟吡菌胺 Fluopicolide	0.08	95.3	1.9	93.4	1.7	95.9	1.7	95.2	76.7	99.7	80.6	99.4	94.2
甲基硫菌灵 Thiophanate-Methyl	0.05	90.4	1.9	85.2	2.0	82.5	2.9	99.6	80.2	99.4	79.9	99.1	93.1
肟菌酯 Trifloxystrobin	0.06	88.3	1.7	88.2	1.8	86.7	1.9	89.9	78.8	93.2	83.6	99.6	95.2
苯醚甲环唑 Difenoconazole	0.06	88.2	1.8	90.8	1.2	95.3	2.7	96.5	79.4	96.5	88.1	99.4	94.4
腈菌唑 Myclobutanil	0.06	93.3	2.8	94.4	1.2	90.3	1.8	92.1	83.1	98.6	82.8	99.1	90.6
多菌灵 Carbendazim	0.08	88.1	2.1	84.6	1.7	81.0	2.7	87.1	76.2	87.1	79.8	87.5	85.7
氟环唑 Epoxiconazole	0.04	98.6	1.6	98.0	1.9	95.1	2.5	93.1	87.2	99.2	89.9	98.8	93.2
粉唑醇 flutriafol	0.04	94.5	1.4	87.7	2.2	87.3	1.6	90.9	81.2	99.5	87.6	99.5	92.5
三唑酮 Triadimefon	0.05	98.5	1.7	93.1	2.9	95.6	2.2	88.9	76.4	98.1	85.9	98.5	93.0
萎锈灵 Carboxin	0.04	93.8	1.7	90.4	2.1	91.9	1.4	98.8	87.7	99.0	90.2	99.0	93.6
吡唑醚菌酯 Pyraclostrobin	0.04	89.0	2.0	91.4	1.2	92.9	1.4	99.5	88.2	99.3	91.1	99.5	94.1
啉菌酯 Azoxystrobin	0.06	88.9	2.3	88.7	2.8	91.6	1.9	95.1	78.9	99.7	85.6	98.6	94.1
丙环唑 Propiconazole	0.08	91.9	1.6	94.7	2.4	93.2	1.3	98.2	80.4	98.9	84.5	99.5	86.7

续表 2(Continued to Table 2)

化合物名称 Compound	LOD (mg/kg)	添加回收率 Recovery						检索分数 Searching scores					
		0.2 (mg/kg)		0.4 (mg/kg)		2.0 (mg/kg)		0.2 (mg/kg)		0.4 (mg/kg)		2.0 (mg/kg)	
		Recovery (%)	RSD (%)	Recovery (%)	RSD (%)	Recovery (%)	RSD (%)	TOF	Q-TOF	TOF	Q-TOF	TOF	Q-TOF
三环唑 Tricyclazole	0.04	95.9	2.0	94.5	2.5	93.5	1.6	99.9	89.7	99.9	92.1	99.5	94.9
烯唑醇 Diniconazole	0.06	89.6	2.6	97.4	1.0	100.2	1.9	98.5	80.7	99.5	84.2	99.2	88.6
稻瘟灵 Isoprothiolane	0.05	92.3	1.1	93.6	2.2	96.0	1.0	99.7	85.2	99.2	89.5	98.8	93.8
氟硅唑 Flusilazole	0.08	83.2	1.6	87.9	1.2	93.2	2.4	96.8	79.9	96.1	85.1	98.9	90.1
噁菌灵 Oxadixyl	0.06	88.3	3.4	86.3	1.4	83.2	2.3	89.7	78.4	98.4	87.4	99.3	95
咪鲜胺 Prochloraz	0.04	99.6	1.1	101.3	3.3	93.1	1.8	99.8	87.8	97.9	90.1	99.3	95.6
戊唑醇 Tebuconazole	0.05	92.6	4.4	88.2	2.7	91.8	2.5	96.7	82.3	98.7	89.9	98.5	91.5
戊菌唑 Penconazole	0.05	96.7	2.6	97.7	1.1	98.2	2.6	97.3	88.9	98.3	85.6	98.3	96.5
啞啞菌胺 Ametoctradin	0.04	92.6	1.2	93.8	1.7	88.6	2.7	96.8	81.7	99.5	90.2	98.9	94.4
啞啞菌胺 Boscalid	0.04	93.6	3.1	90.2	1.5	86.0	1.9	99.2	83.9	99.6	90.2	99.1	92.7
甲霜灵 Metalaxyl	0.04	95.3	2.7	93.4	2.0	90.0	2.0	99.7	85.7	99.7	89.9	99.4	95.6
噻菌灵 Thiabendazole	0.04	86.1	1.9	87.0	3.4	91.2	2.6	98.8	82.7	99.4	90.1	99.2	93.8
抑霉唑 Imazalil	0.06	96.0	2.1	99.0	2.9	100.7	2.6	87.8	82.2	99.5	89.7	98.5	95.7
啞啞胺 Pymethanil	0.05	97.0	2.5	91.7	2.7	93.0	3.1	90.1	81.2	99.5	89.6	99.1	93.2
霜霉威 Propamocarb	0.05	99.8	2.6	94.3	2.3	94.1	2.5	99.7	80.4	99.7	85.5	99.7	94.9

3.5 实际样品筛查

应用建立的方法对 100 份市场抽取的样品进行快速筛查, 筛查结果见表 3, 在 6 个样品中筛查出化学杀菌剂。在 2 个杀虫剂样品中筛查出添加多菌灵和戊唑醇, 在 4 个杀菌剂样品中筛查出添加多菌灵、戊唑醇、三环唑、啞菌酯, 每份阳性样品的一级质谱数据库 (TOF) 检索得分均≥90, 二级质谱数据库 (Q-TOF) 检索得分均≥75。对阳性样品参照农药质量检测标准进行了含量检测。

表 3 实际样品的检测结果
Table 3 Detection results of real samples

农药制剂名称 Pesticide formulation name	添加成分 Illegally added fungicide	检索分数 Searching scores		含量 Content (%)
		一级质谱 TOF	二级质谱 Q-TOF	
10% 吡虫啉可湿性粉剂 10% Imidacloprid wettable powder	多菌灵 Carbendazim	95.9	82.1	2.6
5% 阿维·高氯乳油 5% Abamectin. β -cypermethrin emulsifiable concentrate	戊唑醇 Tebuconazole	90.5	78.8	3.1
40% 多菌灵悬浮剂 40% Carbendazim suspension concentrate	戊唑醇 Tebuconazole	96.9	79.1	4.2
80% 戊唑醇可湿性粉剂 80% Tebuconazole wettable powder	三环唑 Tricyclazole	99.6	76.9	3.9
430 g/L 戊唑醇悬浮剂 430 g/L Tebuconazole suspension concentrate	啞菌酯 Azoxystrobin	99.0	80.5	0.6
15% 三唑酮可湿性粉剂 15% Triadimefon wettable powder	多菌灵 Carbendazim	99.3	86.24	2.1

4 结论

建立了农药制剂中 35 种杀菌剂的 UPLC-Q-TOF MS 的定性筛查方法, 并应用于日常样品检测中, 在本次抽取的 100 份样品中, 筛查出了多菌灵、戊唑醇等杀菌剂, 这些产品没有经过相关的安全性评价, 极易造成农产品残留超标、引起农作物药害等后果。通过对农药制剂中非法添加化学杀菌剂的快速筛查, 能够从源头确保农药质量, 保障农产品质量安全, 为相关的监管部门提供了有效的技术支持。

References

- 1 CHEN Jian-Bo, MA Lin, HUANG Lan-Qi, WU Ai-Juan, ZHAN Xiu-Ping, ZHAO Li. *Chinese J. Chromatogr.*, **2016**, 34(9): 880–887
陈建波, 马琳, 黄兰淇, 吴爱娟, 占绣萍, 赵莉. 色谱, **2016**, 34(9): 880–887
- 2 Wang J, Leung D. *J. Agr. Food Chem.*, **2009**, 57(6): 2162–2173
- 3 XIONG Yan-Mei, TANG Guo, DUANG Jia, LI Chun-Zi, MIN Shun-Geng. *Chinese J. Anal. Chem.*, **2012**, 40(9): 1434–1438
熊艳梅, 唐果, 段佳, 李春子, 闵顺耕. 分析化学, **2012**, 40(9): 1434–1438
- 4 HONG Hua, ZHANG Xiao-Qiang, WU Zhong-Ping, WANG Li, GU Ai-Guo. *Agrochemicals.*, **2013**, 52(11): 812–814
洪华, 张晓强, 武中平, 王莉, 顾爱国. 农药, **2013**, 52(11): 812–814
- 5 QIAO Cheng-Kui, HUANG Yu-Nan, LUO Jing, WANG Chao, FANG Jin-Bao, XIE Han-Zhong. *Agrochemicals.*, **2015**, 54(5): 340–345
乔成奎, 黄玉南, 罗静, 王超, 方金豹, 谢汉忠. 农药, **2015**, 54(5): 340–345
- 6 CANG Tao, WANG Zhi-Wei, WANG Xin-Quan, WANG Xiang-Yun, WU Sheng-Gan, WU Chang-Xing, CHEN Li-Ping, ZHAO Xue-Ping. *Chinese J. Pesti. Sci.*, **2016**, 18(2): 227–231
苍涛, 汪志威, 王新全, 王祥云, 吴声敢, 吴长兴, 陈丽萍, 赵学平. 农药学报, **2016**, 18(2): 227–231
- 7 Mira P, Meritxell G, Damia B. *J. Chromatogr. A*, **2006**, 1124(1–2): 68–81
- 8 ZHANG Feng, DING Fei, CHU Xiao-Gang, LI Fan-Zhu, YONG Wei, WANG Xiu-Juan, LYU Quan-Fu, XU Cheng-Bao. *Chinese J. Anal. Chem.*, **2011**, 39(6): 788–792
张峰, 丁菲, 储晓刚, 李范珠, 雍炜, 王秀娟, 吕泉福, 许成保. 分析化学, **2011**, 39(6): 788–792
- 9 LIU Yun, DING Tao, LIAO Xue-Qing, SHEN Chong-Yu, JIANG Shan, LYU Chen, GUI Qian-Wen, LIU Han, FEI Xiao-Qing, WU Bin, ZHANG Rui, WANG Yan, JI Mei-Quan, WANG Xu-Lu, HUANG Zhi-Qiang. *Chinese J. Anal. Chem.*, **2016**, 44(3): 423–429
刘芸, 丁涛, 廖雪晴, 沈崇钰, 姜珊, 吕辰, 桂茜雯, 柳茜, 费晓庆, 吴斌, 张睿, 王艳, 季美泉, 王栩璐, 黄志强. 分析化学, **2016**, 44(3): 423–429
- 10 GUO Meng-Meng, GUO Jiao, WU Hai-Yan, TAN Zhi-Jun, ZHAI Yu-Xiu, WANG Zhi, LI Zao-Xin, LI Feng-Ling. *Chinese J. Anal. Chem.*, **2016**, 44(10): 1504–1513
郭萌萌, 国佼, 吴海燕, 谭志军, 翟毓秀, 王智, 李兆新, 李凤铃. 分析化学, **2016**, 44(10): 1504–1513
- 11 Ingars R, Iveta P, Ingus P Vadims B. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **2016**, 128: 126–131
- 12 PAN Xiao-Bo, YI Xiong-Hai, SHI Yi-Yin, ZHAO Shan-Zhen, SHENG Yong-Gang, DENG Xiao-Jun, ZHU Jian, DING Zhuo-Ping. *Chinese J. Anal. Chem.*, **2016**, 44(7): 1125–1132
潘孝博, 伊雄海, 时逸吟, 赵善贞, 盛永刚, 邓晓军, 朱坚, 丁卓平. 分析化学, **2016**, 44(7): 1125–1132
- 13 Calbiani F, Careri M, Elviri L, Mangia A, Zagnoni I. *J. Chromatogr. A*, **2004**, 1058(1–2): 127–135
- 14 Meng Z, Shi Z H, Liang S X, Dong X F, LYU Y K, Sun H W. *Food Control*, **2015**, 55: 158–165
- 15 ZHANG Feng, XU Cheng-Bao, LAN Fang, WANG Xiu-Juan, YONG Wei, SUO Ran, CHU Xiao-Gang, DING Fei, LYU Quan-Fu. *Chinese J. Anal. Chem.*, **2012**, 40(1): 101–106
张峰, 许成保, 蓝芳, 王秀娟, 雍炜, 锁然, 储晓刚, 丁菲, 吕泉福. 分析化学, **2012**, 40(1): 101–106
- 16 MENG Zhe, SHI Zhi-Hong, Lyu Yun-Kai, SUN Han-Wen. *Chinese J. Anal. Chem.*, **2014**, 42(10): 1493–1500
孟哲, 石志红, 吕运开, 孙汉文. 分析化学, **2014**, 42(10): 1493–1500
- 17 Didier O, Emmanuelle C, Philippe J, Patrick E. *J. Chromatogr. B*, **2009**, 877: 2363–2374
- 18 Zhang Y Q, Liu X M, Li X, Zhang J J, Cao Y Z, Su M, Shi Z H, Sun H W. *Food Control*, **2016**, 60: 667–676
- 19 Vijay T, Ajay P, Deepak P, Goud D, Jain R R, Dubey D K. *J. Chromatogr. A*, **2014**, 1370: 80–92
- 20 Wang H X, Zhou Y, Jiang Q W. *Microchem. J.*, **2012**, 100: 83–94
- 21 Julia M, Wolfgang B, Juan L S, Esteban A, Irene A. *J. Chromatogr. B*, **2012**, 895–896: 94–101

Rapid Screening of Illegally Added Chemical Fungicide in Pesticide Formulations by Ultra Performance Liquid Chromatography-Quadrupole-Time of Flight Mass Spectrometry

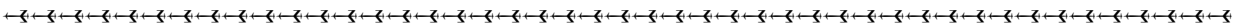
CHEN Jian-Bo, WU Ai-Juan, ZHAO Li, HUANG Lan-Qi, MA Lin, ZHAN Xiu-Ping*
(Shanghai Agriculture Technical Extension Service Center, Shanghai 201103, China)

Abstract A method of ultra performance liquid chromatography-quadrupole-time of flight-mass spectrometry (UPLC-Q-TOF MS) was developed to determine 35 kinds of illegally added chemical fungicides in pesticide formulations. The samples were pretreated based on the ultrasonic extraction by the solvent of methanol, and then separated on a Zorbax C₁₈(100 mm×1.8 mm, 2.1 μm) column by a gradient elution with 0.1% formic acid aqueous solution and acetonitrile as the mobile phase. The mass spectrometer was operated under positive mode. Under the optimal conditions, the recoveries at three spiked levels (0.2, 0.4, and 2.0 mg/kg) were in the range of 81.0% –101.3% and the RSDs were 1.0% –4.4%. Based on the developed method, 100 samples were analyzed, and among which 6 samples were screened out chemical fungicides. The proposed method was high-efficient, accurate and reliable for the qualitatively screening of illegally added chemical fungicides.

Keywords Ultra performance liquid chromatography-quadrupole-time of flight mass spectrometry; Screening; Chemical fungicide; Illegally added; Pesticide formulations

(Received 17 October 2106; accepted 22 December 2016)

This work was supported by the Shanghai Agricultural Committee Youth Growing Plan (No. 2016-4-2)



SCIEX 最新推出快速生物药糖基标记与分析试剂盒方案为研究者提供比传统方法更快检测糖基化变化的能力

北京 2017 年 1 月 24 日 - SCIEX 是生命科学分析技术的全球领先的公司,在 2017 年 1 月 24 号发布了针对于生物制药表征中大量糖基化表征的快速糖标记与分析试剂盒。传统分析中耗时的样品制备和数据分析,现在可以在 SCIEX 公司 PA800 Plus 生物分析系统上通过快速糖释放、标记和分离,进行糖基定性定量分析,从而加快研究者的工作流程。

平均一小时的样品制备,而后进行 96 个分离程序,快速糖分析试剂盒分析糖的速度比传统的 HILIC 方法快五倍。这使研究者可以快速检测糖基的变化,帮助他们监测可能影响功能变化和生物药的功效、清除效率的糖型分布。自动的糖基化定性不再需要手动而乏味的糖基数据库搜索,排除了分析过程中潜在的人为因素。SCIEX 公司提供的方案使分析方法开发和 QC 实验室的研究者可以对生物药中的糖基进行有效的定性和定量,有助于保证治疗效果。

糖基化对生物药的疗效、免疫原性和清除效率的非常关键。对单克隆抗体 (mAb) 来说,它可导致抗体依赖性细胞毒性 (ADCC) 和补体依赖的细胞毒性 (CDC) 的增加或减少。缺少高分辨的糖基化信息 (如岩藻糖基化和非岩藻糖基化结构的分离) 以及不可靠的结果会对患者和研究机构产生很大的风险。

使用客户定制的内标,可以直接在 SCIEX 公司 PA800 Plus 软件上计算糖单位 (GU)。SCIEX 公司提供了全面的糖单位参考表用于糖单位的计算,用户也可以添加自定义的特殊糖基种类。SCIEX 公司快速糖分析方法中的样品处理可以在 Beckman Coulter 的 Biomek 自动化工作站上使用,来进一步提高实验室的通量和效率。

SCIEX 公司产品经理 Mark Lies 说过“通常糖分析需要研究者很有耐心的花费一整天进行样品前处理。SCIEX 公司提供的解决方案具有自动化鉴定糖基的特点,平均几分钟即可完成样品的制备、对糖基进行定性和定量分析,保证了整个实验室更高的工作效率”。

SCIEX 公司快速糖标记与分析试剂盒最近获得了生物国际 (BPI) “最佳技术应用与分析奖”,展示创新的新增功能与其它分析技术的结合。