

QuEChERS-高效液相色谱-串联质谱法测定果蔬中多效唑残留

孙 星, 丁 悦, 汪佳蕾, 王冬兰, 沈 燕, 刘贤金*

(江苏省农业科学院食品质量与安全检测研究所, 农业部农产品质量安全控制技术与标准重点实验室, 江苏 南京 210014)

摘 要:建立了果蔬中多效唑的QuEChERS-高效液相色谱-串联质谱法检测方法。样品用乙腈快速提取, NaCl和无水MgSO₄除水后, 经PSA和石墨炭黑净化, 用高效液相色谱-串联质谱法分析。采用正离子多反应监测模式检测, 定性离子对为 m/z 294.2/70.0、294.2/125.0, 采用 m/z 294.2/70.0进行定量分析。在0.05、0.5、1 mg/kg添加水平下, 样品平均回收率为79.6%~94.9%; 相对标准偏差为3.6%~11.4%; 在梨、苹果、桃、西红柿和黄瓜中的检出限分别为0.4、0.5、0.4、0.4、0.5 $\mu\text{g/kg}$ 。结果表明: 本方法简便、快速、安全、价格低廉, 重复性良好, 可用于果蔬样品中多效唑残留的快速确证检测。

关键词: 高效液相色谱-串联质谱; QuEChERS; 多效唑; 水果; 蔬菜; 残留

Determination of Paclobutrazol Residues in Fruits and Vegetables by QuEChERS-High Performance Liquid Chromatography-Triple Quadrupole Tandem Mass Spectrometry

SUN Xing, DING Yue, WANG Jia-lei, WANG Dong-lan, SHEN Yan, LIU Xian-jin*

(Key Laboratory of Control Technology and Standard for Agro-product Safety and Quality, Ministry of Agriculture, Institute of Food Safety and Inspection, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Nanjing 210014, China)

Abstract: A method was developed for the determination of paclobutrazol residues in fruits and vegetables by using QuEChERS-high performance liquid chromatography-triple quadrupole tandem mass spectrometry (HPLC-MS-MS). Paclobutrazol residues in fruit samples were extracted with acetonitrile, dehydrated with sodium chloride and anhydrous magnesium sulfate, cleaned up by dispersive solid phase extraction on primary secondary amine and graphitized carbon black, and detected by HPLC-MS-MS under a multiple reaction-monitoring mode. The qualitative results were obtained based on the characteristic m/z 294.2/70.0 and m/z 294.2/125.0, and the quantitative results were based on the characteristic m/z 294.2/70.0. The recoveries of paclobutrazol were in the range from 79.6% to 94.9% at three spiked levels of 0.05, 0.5 and 1 mg/kg from five fruits and vegetable matrixes (pear, apple, peach, tomato and cucumber), with relative standard deviations (RSDs) between 3.6% and 11.4%, and the limits of detection were 0.4, 0.5, 0.4, 0.4 and 0.5 $\mu\text{g/kg}$, respectively. The method is simple, quick, safe, reproducible and applicable to detect and confirm paclobutrazol residues in fruit and vegetable samples.

Key words: high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (HPLC-MS-MS); QuEChERS; paclobutrazol; fruit; vegetable; residues

中图分类号: TQ45

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630(2014)08-0076-04

doi:10.7506/spkx1002-6630-201408014

多效唑, 化学名称为(2*RS*,3*RS*)-1-(4-氯苯基)-4,4-二甲基-2-(1*H*-1,2,4-三唑-1-基)戊-3-醇, 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^[1]。目前已经在水稻、大豆、花生、梨树、苹果、桃树、葡萄、

山楂、柑橘、荔枝、龙眼、芒果等的种植中得到了广泛的研究和应用^[2-4]。多效唑虽然属低毒植物生长调节剂, 但是若使用不当, 会造成果实中残留量过高, 可能对人体健康造成危害^[5]。因此, 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

收稿日期: 2013-08-13

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(31071719); 江苏省农业科技自主创新资金项目(CX(12)3090)

作者简介: 孙星(1985—), 男, 学士, 主要从事农产品安全性研究。E-mail: sun0519@sohu.com

*通信作者: 刘贤金(1963—), 男, 研究员, 博士, 主要从事农产品安全性研究。E-mail: jaasliu@163.com

亚等国家也制定了多效唑在多种水果中的最大残留限量。目前我国规定该药在苹果和荔枝中最大残留限量值为0.5 mg/kg^[6]。对多效唑残留量的分析,多用气相色谱法^[7-9]、气相色谱-质谱联用^[10-12]、液相色谱法^[13-15]和液相色谱-质谱联用^[16-19]测定。这些方法的样品前处理步骤繁琐,有机溶剂用量多,而且分析时间长,或检测灵敏度低、重现性差。Anastassiades等^[20]开发出一种快速、简单、廉价、高效、耐用、安全(quick, easy, cheap, effective, rugged, safe, QuEChERS)的样品前处理方法。Lehotay等^[21]对该方法进行了改进,目前该方法已发展成一系列针对不同基质的方法。本研究采用改进的QuEChERS方法作为样品前处理方法,采用高效液相色谱-电喷雾串联质谱(high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, HPLC-MS-MS)测定5种果蔬中多效唑的残留量。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

多效唑(含量99%) 德国Dr. Ehrenstorfer公司;乙腈、丙酮、甲醇(均为HPLC级) 德国Merck公司;NaCl和无水MgSO₄(分析纯) 西陇化工股份有限公司;乙二胺-*N*-丙基甲硅烷(primary secondary amine, PSA)填料(40~60目)和石墨炭黑填料(120~400目) 天津博纳艾杰尔科技有限公司。

1.2 仪器与设备

1260SL G6410A液-质联用仪 美国Agilent公司;SZ-120搅拌机 广东美的生活电器制造有限公司;离心机 美国Thermo Fisher公司;IKAT18匀浆机 德国IKA公司;JY2002电子天平 上海精密科学仪器有限公司。

1.3 方法

1.3.1 标准溶液配制

精确称取多效唑标准品0.050 g(精确至0.001 g),以乙腈溶解定容至50.0 mL,配成标准母液。用流动相乙腈-水-甲酸(80:20:0.1, V/V)稀释至100 mg/L,再分别用流动相、5种不同果蔬空白基质提取液逐级稀释,配制成系列质量浓度的标准工作液0.002、0.005、0.01、0.02、0.05、0.1、0.2、0.5、1 mg/L。

1.3.2 色谱条件

色谱柱:Agilent ZORBAX SB-C₁₈(2.1 mm×150 mm, 5 μm)及ZORBAX SB-Aq Narrow-Bore Guard Column 2.1 mm×12.5 mm, 5 μm(预柱);流动相:乙腈-水-甲酸(80:20:0.1, V/V),流速:0.20 mL/min,进样体积:5.0 μL。

1.3.3 质谱条件

离子源:电喷雾电离源,正离子模式;离子源温度:350 ℃;雾化气压:35 psi;毛细管电压:5.0 kV;

去溶剂气流:600 L/h;脱溶剂气温度:350 ℃;干燥气流速:10 L/min;在分析过程中,采用多反应检测模式,以保留时间和离子对信息比较进行定性分析;以母离子和响应值最高的子离子进行定量分析。多效唑的保留时间、监测离子及碰撞电压见表1。

表1 MRM模式下多效唑的保留时间、监测离子(*m/z*)及碰撞电压(CE)
Table 1 Retention time, monitoring ions and collision energy (CE) of paclobutrazol in the MRM mode

化合物	保留时间/min	母离子(<i>m/z</i>)	子离子(<i>m/z</i>)	碰撞电压/V
多效唑	2.4	294.2	70.0*	49
			125.0	50

注:*.定量离子。

1.3.4 样品前处理

准确称取匀浆粉碎样品4.0 g于10 mL离心管中,加0.5 g NaCl,加4 mL乙腈,旋涡振荡1 min,3 000 r/min离心5 min取2 mL上清液转入加有0.5 g无水MgSO₄、0.1 g PSA和0.02 g石墨炭黑的4 mL离心管中,振荡1 min,5 000 r/min离心3 min,取上清液待测。

2 结果与分析

2.1 QuEChERS方法条件的选择

QuEChERS方法是利用吸附剂填料与基质中的杂质相互作用,吸附杂质从而除杂净化。其步骤可概括为:样品粉碎、单一溶剂提取分离、加入MgSO₄等盐类除水、加入吸附剂除杂、上清液进行检测。本方法分别用乙腈、甲醇和丙酮提取样品,结果相比较,乙腈不容易提取色素和基质中的非极性成分,且通过盐析更容易去除样品中的水分,故选用乙腈做提取剂。本研究选择石墨炭黑、PSA和氨基填料进行比较研究,结果显示石墨炭黑填料对农药有一定的吸附作用,导致回收率不稳定。PSA和氨基对色素去除不够,污染离子源,干扰检测结果,其中氨基填料对脂肪酸的去除效果不如PSA,从而回收率偏低。本实验最终确定PSA和石墨炭黑用量分别为0.1 g和0.02 g。结果表明,采用混合型分散固相萃取填料来处理样品,净化效果好,对目标物干扰少,定性与定量分析效果好。

2.2 线性范围和最低检出限

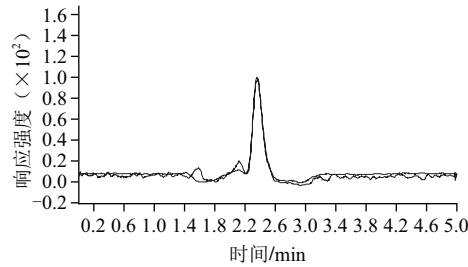
分别用流动相乙腈-水-甲酸(80:20:0.1, V/V)、5种不同空白基质提取液配制好的0.002、0.005、0.01、0.02、0.05、0.1、0.2、0.5、1 mg/L多效唑标准液,进样5.0 μL,平行测定5次。当多效唑的质量浓度为0.002~1 mg/L时,其在流动相和不同基质中的线性回归方程见表2。多效唑在梨、苹果、桃、西红柿和黄瓜中的检出限分别为0.4、0.5、0.4、0.4、0.5 μg/kg。结果表明,不同基质对仪器响应均有一定影响,但该方法的灵敏度和最小检出量仍能满足农药残留的要求。

表 2 多效唑在不同基质中的标准曲线参数

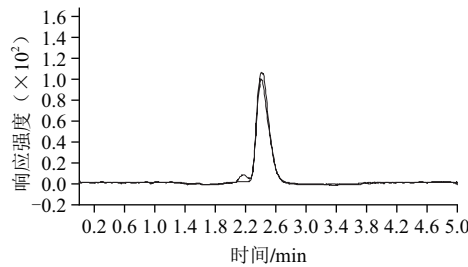
Table 2 Parameters of linear calibration curves for paclobutrazol in different matrices			
基质	线性方程	r^2	检出限/($\mu\text{g/kg}$)
流动相	$y=135\ 174x+1\ 718.9$	0.997 4	0.4
梨	$y=137\ 053x+1\ 261.8$	0.998 1	0.4
苹果	$y=159\ 187x+1\ 007.1$	0.998 9	0.5
桃	$y=174\ 985x+1\ 181$	0.999 1	0.4
西红柿	$y=200\ 979x+1\ 888.5$	0.998 2	0.4
黄瓜	$y=200\ 843x-83.618$	0.999 9	0.5

注：y 为峰面积；x 为质量浓度/(mg/L)。

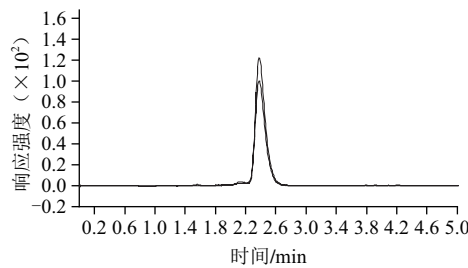
2.3 方法的回收率和精密度



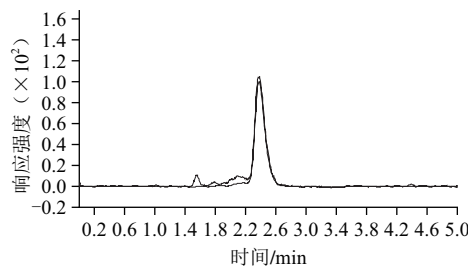
A. 梨



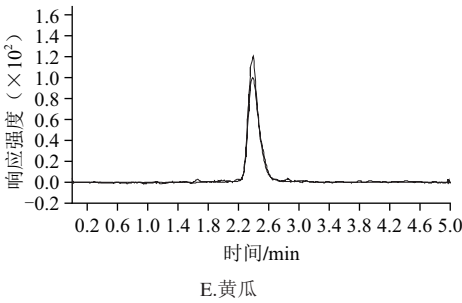
B. 苹果



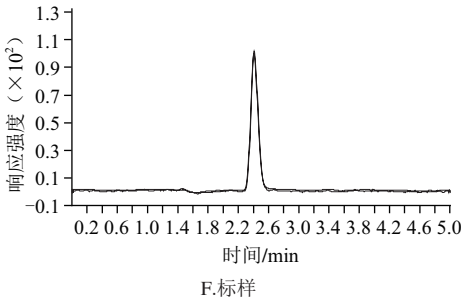
C. 桃



D. 西红柿



E. 黄瓜



F. 标样

图 1 多效唑在 5 种样品和标样中的色谱图

Fig.1 Chromatograms of paclobutrazol in 5 samples and standard sample

表 3 多效唑在 5 种样品中的加标回收率与精密度 ($n=5$)

Table 3 Recoveries and precision for paclobutrazol in 5 samples ($n=5$)			
样品	添加量/(mg/kg)	回收率/%	相对标准偏差/%
梨	0.05	87.6	10.6
	0.5	83.7	5.4
	1.0	94.9	7.6
苹果	0.05	88.1	9.3
	0.5	80.5	6.9
	1.0	93.8	4.4
桃	0.05	82.9	5.8
	0.5	94.1	4.9
	1.0	89.9	8.1
西红柿	0.05	80.3	11.4
	0.5	84.1	6.9
	1.0	87.6	8.4
黄瓜	0.05	82.7	8.8
	0.5	79.6	3.6
	1.0	92.4	4.9

多效唑在梨、苹果、桃、西红柿和黄瓜中的添加 0.05 mg/kg 色谱图及标样 0.05 mg/kg 色谱图见图 1。用 5 种空白样品进行添加多效唑标准溶液的回收率实验，每个添加水平重复 5 次。多效唑在添加 0.05、0.5 mg/kg 和 1.0 mg/kg 水平时，其在梨中的添加回收率为 83.7%~94.9%，相对标准偏差 5.4%~10.6%；在苹果中的添加回收率为 80.5%~93.8%，相对标准偏差 4.4%~9.3%；在桃中的添加回收率为 82.9%~94.1%，相对标准偏差 4.9%~8.1%；在西红柿中的添加回收率为 80.3%~87.6%，相对标准偏差 6.9%~11.4%；在黄瓜中的添加回收率为 79.6%~92.4%，相对标准偏差

3.6%~8.8% (表3)。多效唑在5种基质中的添加回收率和相对标准偏差均符合NY/T 788—2004《农药残留试验准则》^[22]的要求。

2.4 实际样品的测定

采用本实验建立的方法对江苏省内5个地级市抽取梨、苹果、桃、西红柿和黄瓜样品,每个地级市不同的农贸市场采集10个点,对抽取的样品进行了检测分析。结果表明,多效唑在梨、西红柿和黄瓜样品中均未检出;在4个批次的苹果和2个批次的桃中有检出,在4个批次苹果中的残留量为0.013~0.034 mg/kg,在2个批次的桃中的残留量分别为0.016 mg/kg和0.022 mg/kg。检出多效唑的苹果和桃中典型色谱图(图2)。

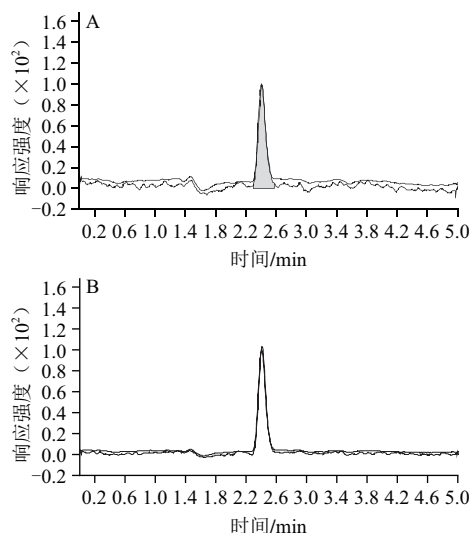


图2 多效唑在苹果(A)和桃(B)实际样品中的色谱图

Fig.2 Chromatograms of paclobutrazol in real apple and peach samples

3 结论

本实验采用乙腈提取, QuEChERS方法净化, HPLC-MS-MS检测, 成功地建立了果蔬中多效唑的快速检测方法。该方法较以往方法具有操作简单、提取时间短、萃取效率高的特点, 还降低了检测的成本。同时避免使用大量有机溶剂, 减少了对环境污染, 适用于实验室多效唑在果蔬中残留的常规检测。

参考文献:

- [1] 宋莹, 张耀海, 黄霞, 等. 气相色谱-串联质谱法快速检测水果中的多效唑残留[J]. 分析化学研究简报, 2011, 39(8): 1270-1273.
- [2] 尤爱琴. 果树生产上如何使用多效唑[J]. 福建果树, 2004(7): 31-33.
- [3] 贾洪涛, 党金鼎, 刘凤莲. 植物生长延缓剂多效唑的生理作用及应用[J]. 安徽农业科学, 2003, 31(2): 323-324.
- [4] 王金波, 魏敏宣. 多效唑在果树上的应用[J]. 河北果树, 2003(1): 36.
- [5] 陈锦永, 方金豹, 顾红, 等. 多效唑在桃果实中残留研究[J]. 果树学报, 2012, 29(6): 1088-1091.
- [6] 农业部. GB 2763—2012 食品中农药最大残留限量[S]. 北京: 中国标准出版社, 2012.
- [7] 李春丽, 尹桂豪, 刘春华. 超声萃取-气相色谱法测定芒果园土壤中多效唑残留量[J]. 安徽农业科学, 2009, 37(11): 4856-4857.
- [8] 谢艳丽, 章程辉, 梁振益, 等. 毛细管气相色谱法检测荔枝中多效唑残留量[J]. 现代农药, 2011, 10(1): 36-37.
- [9] 杨莎莎, 李海畅, 董婷. 多效唑在水稻环境中的残留及消解动态[J]. 山地农业生物学报, 2013, 32(1): 71-74.
- [10] 吕燕, 赵建, 杨挺, 等. 气相色谱质谱法检测蔬菜中多效唑的残留[J]. 中国测试, 2010, 36(4): 57-59.
- [11] 白桦, 邱月明, 张青. 气相色谱-质谱法测定苹果中多效唑残留量[J]. 分析测试学报, 2005, 24(4): 64-66.
- [12] 张威远, 陈锦永, 方金豹, 等. 多效唑在桃果实中的残留量评估[J]. 园艺学报, 2013, 40(7): 1369-1374.
- [13] 余佳荣, 杨仁斌, 王海洋, 等. 多效唑在油菜植株、油菜籽和土壤中的残留[J]. 农药学报, 2008, 10(1): 113-116.
- [14] 王安群, 彭凤仙, 邓益群. 高效液相色谱法同时测定吡虫啉和多效唑[J]. 精细化工中间体, 2004, 34(2): 72-73.
- [15] ADRIANSEN E, ODGAARD P. Residues of paclobutrazol and uniconazole in nutrient solutions from ebb and flood irrigation of pot plants[J]. Scientia Horticulturae, 1997, 69(1/2): 73-83.
- [16] FERRACIN I, LUCIA V, NASCIMENTO S C, et al. Determination of paclobutrazol in mango by LC/MS/MS system[J]. Toxicology Letters, 2008, 180(Suppl 1): 166.
- [17] JUAN V S, OSCAR J P, TATIANA Z, et al. Direct determination of paclobutrazol residues in pear samples by liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2003, 51(15): 4202-4206.
- [18] 王静静, 鹿毅, 杨涛. HPLC-MS/MS法同时测定果蔬中6种植物生长抑制剂残留[J]. 分析测试学报, 2011, 30(2): 128-134.
- [19] 徐永, 寿林飞, 虞淼, 等. 超高效液相色谱-串联四级杆质谱联用法测定水果中多效唑、氯吡脞和咪唑鲜胺的残留[J]. 农药学报, 2012, 14(1): 61-66.
- [20] ANASTASSIADES M, LEHOTAY S J, STAJNBAHER D. Quick, easy, cheap, effective, rugged, and safe (QuEChERS) approach for the determination of pesticide residues in 18th annual waste testing & quality symposium proceedings[J]. Arlington, VA: [s. n.], 2002: 231.
- [21] LEHOTAY S J. Determination of pesticide residues in foods by acetonitrile extraction and partitioning with magnesium sulfate: collaborative study[J]. Journal of AOAC International, 2007, 90(2): 485-520.
- [22] 农业部农药检定所. NY/T 788—2004 农药残留实验准则[S]. 北京: 中国农业出版社, 2004.