

◆ 残留与环境 ◆

液相色谱-串联质谱法测定烤烟中 甲基嘧啶磷的残留量

蔡海林¹, 谢鹏飞¹, 曾维爱¹, 赵阿娟¹, 翟争光¹, 刘佳², 朱航², 周勇^{2*}

(1. 湖南省烟草公司长沙市公司, 长沙 410011 2. 湖南省农业科学院, 湖南省农业生物技术研究所, 长沙 410125)

摘要:建立了液相色谱-串联质谱(HPLC-MS/MS)测定烤烟中甲基嘧啶磷的残留分析方法。试样采用乙腈提取, 经GCB和C₁₈净化剂净化后, 用HPLC-MS/MS对甲基嘧啶磷进行定量分析。实验结果表明, 甲基嘧啶磷在添加水平为0.03~3 mg/kg条件下的回收率为86.9%~92.5%, 相对标准偏差为4.2%~11.5%。方法的定量限(LOQ)为0.03 mg/kg。本方法操作简单快速, 准确度好, 灵敏度高, 适用于烤烟中甲基嘧啶磷残留量的检测。

关键词:烤烟; 甲基嘧啶磷; 残留; 液相色谱-串联质谱

中图分类号: O 657.63 **文献标志码:** A **doi:** 10.3969/j.issn.1671-5284.2021.02.009

Determination of Pirimiphos-methyl Residue in Flue-cured Tobacco by HPLC-MS/MS

CAI Hailin¹, XIE Pengfei¹, ZENG Weiai¹, ZHAO Ajuan¹, ZHAI Zhengguang¹, LIU Jia², ZHU Hang², ZHOU Yong^{2*}

(1. Changsha City Tobacco Company of Hunan Province, Changsha 410011, China; 2. Hunan Agricultural Biotechnology Research Institute, Hunan Academy of Agricultural Science, Changsha 410125, China)

Abstract: A method for determination of pirimiphos-methyl residue in flue-cured tobacco was developed, which by liquid chromatography-tandem mass spectrometry (HPLC-MS/MS). The samples were extracted by acetonitrile, purified with GCB and C₁₈, detected by HPLC-MS/MS. The result indicates that pirimiphos-methyl's recovery range was 86.9%-92.5% when the adding level was 0.03-3 mg/kg. The relative standard deviation range is 4.2%-11.5%. The limit of quantitation (LOQ) of pirimiphos-methyl was 0.03 mg/kg. The method is simple to operate and has the advantages of good accuracy and high sensitivity. It is suitable for the determination of pirimiphos-methyl residue in flue-cured tobacco.

Key words: flue-cured tobacco; pirimiphos-methyl; residue; HPLC-MS/MS

甲基嘧啶磷作为一种广谱性有机磷杀虫杀螨剂, 其速效性好, 渗透力强, 对蔬菜、粮谷害虫及卫生害虫有良好的防治效果, 还具有触杀、胃毒和一定的熏蒸作用^[1-3]。有研究表明, 甲基嘧啶磷对哺乳类动物的急性毒性比敌敌畏低很多^[4], 若在其有效剂量下对烟叶香味没有影响, 就可以应用于烤烟仓库害虫的防治^[5]。甲基嘧啶磷在国外应用于烤烟仓库中防治仓储害虫^[6], 虽然其在国内没有在烤烟作物上进行登记, 但实际上在烤烟仓储过程中也有将其用于防治害虫的情况。甲基嘧啶磷残留量过多

会对人畜产生不良影响, 其分解产物也可能会对人的身体健康产生严重的危害^[7-8]。

烟草作为特殊的经济作物, 其安全性在国际贸易中受到各个国家的特别关注, 其农药残留问题也一直是烟草行业乃至社会关注的焦点^[9-10]。因此, 快速准确地测定烟草中甲基嘧啶磷的农药残留量是必要的。目前食品中甲基嘧啶磷残留测定分析方法有气相色谱法^[11-13]、气相色谱-串联质谱法^[14-15]、液相色谱-串联质谱法^[16-17]等, 未见烤烟中甲基嘧啶磷的残留情况及检测方法的报道。笔者建立了用高效

收稿日期: 2020-05-08

基金项目: 长沙烟区烟叶质量安全风险控制点分析研究与应用(CYKJ2017-01)

作者简介: 蔡海林(1979—), 男, 湖南长沙人, 博士, 高级农艺师, 主要从事烟草病虫害绿色防控技术与推广。E-mail: hailincai@126.com

通信作者: 周勇(1985—), 男, 湖南长沙人, 硕士, 助理研究员, 主要从事农药残留分析研究。E-mail: jimiaobuchugan@126.com

(C)1994-2022 China Academic Electronic Journal Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

液相色谱-串联质谱法测定烤烟中甲基嘧啶磷残留量的方法,该方法简便高效,灵敏度高,适合烤烟中甲基嘧啶磷残留量的检测,为烤烟中甲基嘧啶磷的检测提供参考。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

TSQ Endura三重四级杆液质联用仪,赛默飞世尔公司;Hypersil GOLD C₁₈ (100 mm × 2.1 mm × 1.9 μm) 色谱柱,ME104E电子天平,梅特勒-托利多国际贸易上海有限公司;YP5102电子天平,上海光正医疗仪器有限公司;MTV-100多管旋涡混合仪,杭州奥盛仪器有限公司;XW-80A微型旋涡混合仪,上海沪西分析仪器厂;TDZ5-WS低速离心机,湖南平凡科技有限公司;DHG-9030A电热鼓风干燥箱,中仪国科科技有限公司;TGL-16A高速冷冻离心机,湖南平凡科技有限公司;Blixer 6 V.V乳化搅拌机,法国罗伯特有限公司。

乙腈(分析纯),国药集团化学试剂有限公司;甲醇(色谱纯),德国默克公司;甲酸(色谱纯)、C₁₈、GCB、PSA,德国CNW科技公司;氯化钠(分析纯),国药集团化学试剂有限公司;超纯水,屈臣氏集团有限公司。

甲基嘧啶磷标准品(纯度99.0%),坛墨质检科技股份有限公司。

1.2 试验样品前处理

称取粉碎后的烤烟样品5.0 g置于100 mL离心管中,加入10 mL超纯水,再加30 mL乙腈溶液,涡旋5 min,随后加5.0 g氯化钠,继续涡旋3 min后取出,于4 000 r/min条件下离心3 min,移取上清液1.5 mL于装有10 mg GCB和40 mg C₁₈净化剂的2 mL离心管中,涡旋1 min后于10 000 r/min条件下离心3 min,取1 mL上清液过0.22 μm有机滤膜,装入进样瓶中待测。

1.3 色谱和质谱检测条件

液相色谱条件:流速为0.3 mL/min;流动相B为甲醇,流动相C为0.1%甲酸水溶液;柱箱温度为35℃;进样量为5 μL。梯度洗脱程序:0~0.5 min 20% B;0.5~2.0 min 20%~95% B;2.0~4.5 min 95% B;4.5~4.6 min 95%~20% B;4.6~5.5 min 20% B。

质谱条件:电离源模式为ESI;电离源极性为正;雾化气为氮气;鞘气压力为276 kPa;离子传输管温度为310℃;喷针温度为330℃;离子喷雾电压为3 500 V。

甲基嘧啶磷的保留时间、母离子、子离子和碰

撞能量等参数见表1。

表1 甲基嘧啶磷质谱参数

保留时间/min	母离子(<i>m/z</i>)	子离子(<i>m/z</i>)	RF Lens/V	碰撞能量/V
4.10	306.0	164.1	151	23
4.10	306.0	278.0	151	20

1.4 标准溶液配制

准确称取0.010 1 g甲基嘧啶磷标准品,用乙腈进行溶解并定容至100 mL,配制成质量浓度为100 mg/L的母液,用甲醇进行稀释成浓度为10 mg/L的标准工作溶液,再用甲醇进行稀释并配制成浓度分别为1、0.5、0.1、0.05、0.01、0.005 mg/L的系列标准溶液。

1.5 添加回收率试验

称取烤烟空白样品5.0 g置于100 mL离心管中,添加浓度分别为0.03、0.3、3 mg/kg,添加后进行振荡充分混匀,静置30 min,将静置后的样品按照1.2的提取与净化步骤和1.3的仪器条件进行分析检测,计算添加回收率和相对标准偏差。

2 结果与分析

2.1 HPLC-MS/MS条件的选择

分别测试甲基嘧啶磷在ESI源正离子、ESI源负离子扫描方式下的信号强度,其中ESI源正离子响应相对较好。通过对碎裂电压和碰撞能量等参数进行优化,选择306.000/164.111作为定量离子对,306.000/278.000作为定性离子对进行监测。甲基嘧啶磷色谱图见图1。

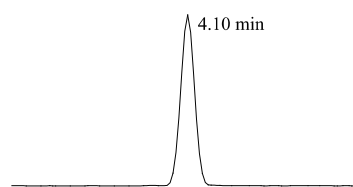


图1 甲基嘧啶磷色谱图

选择甲醇-水、甲醇-0.1%甲酸水溶液为流动相,采用相同梯度洗脱条件进行甲基嘧啶磷检测。结果表明,甲醇-0.1%甲酸水溶液为流动相时,甲基嘧啶磷响应较高并且峰形更好。

2.2 提取条件的选择

前处理过程中选用乙腈作为提取剂,因乙腈通用性强,且乙腈较难提取糖、蛋白质类化合物,这样提取液中的干扰基质很少。为了提高提取效果,加入适当纯水有助于增强乙腈对烤烟基质的渗透性。

2.3 净化剂的选择

烤烟样品基质中含有色素及油脂等杂质^[18],基

质较为复杂,因此净化剂的选择对后续的样品检测及整个实验结果尤为重要。实验对比了GCB+PSA和GCB+C₁₈ 2种净化剂组合的净化效果。实验结果显示,GCB+PSA净化剂进行处理后得到的样品添加回收率相对较低,GCB+C₁₈的净化后得到的样品添加回收率相对较好,起到较好的净化效果,达到要求。

2.4 方法的线性

分别将配制的系列标准溶液(1、0.5、0.1、0.05、0.01、0.005 mg/L)按照浓度从低到高的顺序进行检测,每个浓度重复3次。以其溶液浓度为横坐标,对应的峰面积为纵坐标,制作标准曲线。结果表明在0.005~1 mg/L范围内,甲基嘧啶磷线性关系良好,得到甲基嘧啶磷的线性回归方程为 $y=38\ 991\ 544\ x+497\ 969$,相关系数 R^2 为0.996 4。

2.5 添加回收率及相对标准偏差

在烤烟基质中进行3个水平的添加回收率实验,每个处理重复5次。甲基嘧啶磷在烤烟中的添加回收率试验结果见表2。结果表明,甲基嘧啶磷在烤烟中的平均回收率为86.9%~92.5%,相对标准偏差为4.2%~11.5%,符合农药残留检测的要求。烤烟添加样品色谱图见图2。

表2 甲基嘧啶磷在烤烟中的添加回收率及相对标准偏差

农药	添加水平/(mg·kg ⁻¹)	平均回收率/%	相对标准偏差/%
甲基嘧啶磷	0.03	86.9	11.5
	0.3	92.5	8.4
	3	88.7	4.2

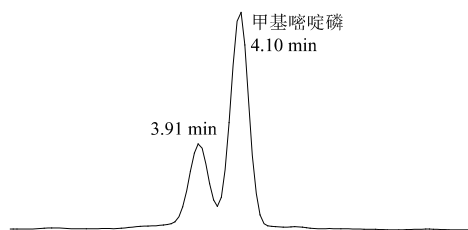


图2 烤烟添加样品色谱图

2.6 方法定量限

方法的定量限为添加回收试验的最低添加浓度,甲基嘧啶磷在烤烟中的定量限为0.03 mg/kg。

3 结论

本研究建立了一种液相色谱-串联质谱法测定烤烟中甲基嘧啶磷残留量的分析方法。烤烟样品经乙腈提取,GCB和C₁₈净化,HPLC-MS/MS测定。甲基嘧啶磷在烤烟中的平均回收率为86.9%~92.5%,相

对标准偏差为4.2%~11.5%。本方法操作简单方便、高效准确,适用于烤烟中甲基嘧啶磷的残留检测。

参考文献

- [1] 程新胜, 范方兵. 几种药剂对烟草甲的生物活性评价[J]. 粮油仓储科技通讯, 2002(5): 24-25; 37.
- [2] 王建平, 何润合, 田华龙, 等. 以密胺树脂为壁材的甲基嘧啶磷微胶囊的制备与表征[J]. 天津工业大学学报, 2018, 37(2): 43-48.
- [3] 许天均, 苏建峰. 气相色谱法和气相色谱-质谱法测定大蒜中甲基嘧啶磷和乙基嘧啶磷残留量[J]. 理化检验-化学分册, 2019, 55(4): 457-462.
- [4] 农业部农药检定所. 新编农药手册[M]. 北京: 农业出版社, 1989.
- [5] 薛宝燕, 魏重生, 程新胜, 等. 3种贮烟保护剂对取食不同食料烟草甲的生物活性[J]. 安徽农业科学, 2005, 33(7): 1232-1233.
- [6] COTTRELL C B. Post-harvest tobacco infestation control: Ed. by L. Ryan ISBN 0412 63130 X Chapman & Hall, London[J]. Crop Protection, 1996, 15(1):106-107.
- [7] WANG Y, YANG B, ZHANG P, et al. Heterogeneous reactions of pirimiphos-methyl and pirimicarb with NO₃ radicals[J]. The Journal of Physical Chemistry A, 2012, 116(44):10802-10809.
- [8] OLSVIK PAL A, BERNTSEN M H G, SOFTELAND L. In vitro toxicity of pirimiphos-methyl in Atlantic salmon hepatocytes [J]. Toxicology in Vitro, 2017(39): 1-14.
- [9] 王兴宁, 蔡秋, 刘康书, 等. 气相色谱-串联质谱法测定烟草中97种农药残留量[J]. 理化检验(化学分册), 2014, 50(12): 1561-1566.
- [10] 王津军, 文国松, 丁金玲, 等. 烟草农药残留研究进展及降低烟叶农药残留的探讨[J]. 云南农业大学学报, 2006, 21(3): 329-332.
- [11] 陈红波, 方如意, 陆正. 气相色谱法测定大米中马拉硫磷与甲基嘧啶磷[J]. 科学技术创新, 2019(11): 20-21.
- [12] 刘咏梅, 王志华, 储晓刚. 凝胶渗透色谱净化-气相色谱测定糙米中7种常见有机磷农药残留[J]. 农药, 2004, 43(10): 460-462.
- [13] 姜俊, 李安, 李海燕, 等. 大葱中25种有机磷农药多残留的微波净化-气相色谱测定[J]. 色谱, 2007, 25(3): 395-398.
- [14] 杨彬, 王胜德, 王宇. 甲基嘧啶磷及其杂质的GC-MS分析研究[J]. 精细化工中间体, 2017, 47(1): 66-69.
- [15] 苏建峰, 钟茂生, 陈晶, 等. 气相色谱-质谱法与气相色谱法测定茶叶及茶叶加工品中295种农药多残留[J]. 分析测试学报, 2015, 34(6): 625-638.
- [16] 周靓静, 吴俐勤, 申雪丽. 超高效液相色谱-串联质谱法测定蜂蜜中的14种杀虫剂残留[J]. 理化检验-化学分册, 2017, 53(6): 627-635.
- [17] 王玉健, 黄惠玲, 林正锋, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法同时测定水果中吡菌磷等9种有机磷农药残留量[J]. 分析试验室, 2011, 30(10): 88-91.
- [18] 梅文泉, 邵金良, 黎其万, 等. 固相萃取-气相色谱-质谱联用法测定烟草中异丙甲草胺、仲丁灵、氟节胺、敌草胺的残留量[J]. 西南农业学报, 2014, 27(2): 819-822.

(责任编辑:徐娟)