◆ 残留与环境 ◆

UPLC-MS/MS检测小麦中甲哌鎓的残留量

查欣欣[1],曲 滢[1],杜功名[1],万宏剑[1],余鹏敏[1],叶 剑[1],王永青[2*]

(1.江苏恒生检测有限公司,南京 210046;2.江苏省滨海县植物保护站,盐城 224500)

摘要:本研究建立了采用超高效液相色谱-串联质谱(UPLC-MS/MS),测定小麦籽粒和秸秆中甲哌鎓残留量的分析方法。样品采用乙酸铵-0.1%甲酸水溶液和甲醇提取,提取液经分散固相萃取净化,采用多反应监测模式(MRM),外标法定量测定。结果表明:在0.05～5 mg/L范围内,甲哌鎓的质量浓度与其峰面积呈良好的线性关系(相关系数大于0.999)。添加水平为0.05、0.5、1 mg/kg时,检测方法的平均回收率为78%～103%,相对标准偏差为2.3%～8.9%。此分析方法的线性关系良好,灵敏度和精确性满足农药残留分析要求,可用于生产上小麦中甲哌鎓残留检测分析。

关键词:甲哌鎓;小麦;超高效相色谱-串联质谱法;农药残留

中图分类号:TQ 450.7 **文献标志码**:A doi:10.3969/j.issn.1671-5284.2023.01.009

Determination of Mepiquat Chloride Residue in Wheat by UPLC-MS/MS

ZHA Xinxin[1], QU Ying[1], DU Gongming[1], WAN Hongjian[1], YU Pengmin[1], YE Jian[1], WANG Yongqing[2*]

(1. Jiangsu Evertest Limited Company, Nanjing 210046, China; 2. Binhai County Plant Protection Station, Jiangsu Province , Yancheng 224500, China)

Abstract: Ultra performance liquid chromatography tandem-mass spectrometry (UPLC-MS/MS) method was established for the determination of mepiquat chloride residue in wheat grain and stalk. The samples were extracted by ammonium acetate-formic acid aqueous solution and methanol, purified by dispersed solid phase extraction, quantified by external standard method using multiple reaction monitoring mode (MRM). The results showed that there were good linear relationships between the peak areas of mepiquat chloride and their mass concentrations in the range of 0.05-5 mg/L. The recoveries were 78% to 103% with relative standard deviations of 2.3%-8.9% at the fortified levels of 0.05, 0.5 and 1 mg/kg. The method was sensitive and acurate with good linear relationship, which accorded with the requirements of pesticide residue analysis, could be used for analysing mepiquat chloride residue.

Key words: mepiquat chloride; wheat; UPLC-MS/MS; pesticide residue

甲哌鎓(Mepiquat chloride),化学名称为五硼酸1,1-二甲基哌啶鎓盐(图1),CAS号为24307-26-4,分子量为149.7,分子式为$C_7H_{16}ClN$,属于季铵盐化合物,易溶于水,其阳离子以游离形态存在于溶液中。甲哌鎓是一种新型植物生长调节剂,对植物有较好的内吸传导性,通过缩短秆长和加强秆壁可以提高小麦植株的抗倒伏能力。主要混剂有甲哌鎓·乙烯利、甲哌鎓·叶菌唑、甲哌鎓·多效唑、甲哌鎓·烯效唑,可以提高小麦抗倒伏能力、产量和品质[1-3]。

图1 甲哌鎓结构式

评估甲哌鎓化学残留时,需要同时考虑用于监管MRL的残留定义[4]和用于膳食摄入评估的残留定义[5],两者残留定义均为甲哌鎓阳离子,以甲哌鎓计。目前国标制定了甲哌鎓在小麦、棉籽、大豆、花生仁、马铃薯和甘薯上的最大残留限量(MRL),但

收稿日期:2022-12-28
作者简介:查欣欣(1990—),女,安徽合肥人,硕士,工程师,主要从事有机污染化学研究工作。E-mail:752478599@qq.com
通信作者:王永青(1977—),男,江苏盐城人,本科,高级农艺师,主要从事农作物的病虫害防治工作。E-mail:xz00012@sina.com

(C)1994-2023 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

未推荐任何关于甲哌鎓的检测方法。目前已有文献用质谱检测甲哌鎓在棉花、大豆、水稻和土壤中残留[6-9]，主要检测方法为离子色谱法和共振光散射法[8-12]。而关于甲哌鎓在小麦上的残留分析方法尚未见报道，因此，本研究旨在建立一种超高液相色谱-串联质谱法测定小麦中甲哌鎓的残留分析方法，为甲哌鎓的膳食风险摄入评估提供技术参考。

1　材料与方法

1.1　试剂与仪器

91.1%甲哌鎓（标准品），广州佳途科技股份有限公司；乙腈（色谱纯）、甲醇（色谱纯），TEDIA；甲酸（分析纯）、乙酸铵（分析纯），国药集团化学试剂有限公司；氯化钠（分析纯），江苏强盛功能化学股份有限公司；*N*-丙基乙二胺，上海安谱实验科技股份有限公司；无水硫酸镁（分析纯），上海麦克林生化科技有限公司。

滤膜（0.22 μm），天津市津腾实验设备有限公司；超纯水仪，默克化工技术（上海）有限公司；AL204万分之一天平，梅特勒-托利多仪器（上海）有限公司；AM600刀式研磨仪，蚂蚁源科学仪器有限公司；ACQUITY UPLC BEH Amide C_{18}柱（2.1 mm× 100 mm，1.7 μm）、Waters Xevo TQD液相质谱仪，沃特世科技（上海）有限公司。

1.2　试验材料

小麦品种为‘镇麦12号’，由江苏恒生检测有限公司提供。

1.3　检测条件

色谱柱：ACQUITY UPLC BEH Amide C_{18}柱，2.1 mm× 100 mm（内径），1.7 μm（粒径）；柱温：30℃；进样体积：5 μL；流动相A：5 mmol/L乙酸铵-0.1%甲酸水，流动相B：甲醇，梯度进样条件见表1。

表1　梯度洗脱条件

时间/min	流速/(mL·min^{-1})	流动相A/%	流动相B/%
0	0.2	90	10
1.0	0.2	50	50
1.5	0.2	10	90
3.5	0.2	10	90
3.6	0.2	90	10
5.0	0.2	90	10

离子源类型：ESI；扫描方式：正离子扫描；离子源温度：110℃；脱溶剂气温度：400℃；毛细管电压：3.5 kV；脱溶剂为N_2，流量：500 L/h；碰撞气为Ar，流量：0.10 mL/min；保留时间：1.47 min；检测方式：多反应监测（MRM），见表2。

表2　多反应监测条件

离子对（*m/z*）	驻留时间/s	锥孔电压/V	碰撞气能/V
113.9＞57.9*	0.16	30	20
113.9＞97.9	0.16	30	40

注：*表示定量离子对。

1.4　样品的提取及净化

准确称取小麦籽粒5.0 g、小麦秸秆2.5 g，置于50 mL离心管中，加入20 mL 0.2 mol/L乙酸铵-0.1%甲酸水：甲醇（9∶1，*V*/*V*），涡旋1 min，振荡30 min，5 000 r/min离心5 min。取1.0 mL上清液至装有50 mg PSA和50 mg GCB的1.5 mL离心管中，涡旋30 s，10 000 r/min离心5 min，取上清液过0.22 μm水系滤膜，待UPLC-MS/MS检测。

1.5　标准溶液的配制

准确称取0.010 4 g甲哌鎓标准品，用甲醇定容至10 mL，用甲醇逐级稀释配制成100、10 mg/L和1 mg/L的标准溶液，于0～4℃保存，备用。

1.6　标准曲线的绘制

分别用溶剂空白、小麦籽粒空白基质溶液、小麦秸秆基质空白溶液配制浓度为0.5、0.2、0.1、0.05、0.02、0.01、0.005 mg/L的甲哌鎓系列溶液，按照1.3的检测条件，以甲哌鎓进样质量浓度为横坐标，峰面积为纵坐标，绘制溶剂空白和基质空白标准曲线。

1.7　添加回收试验

分别在小麦籽粒和秸秆空白样品中添加甲哌鎓标准溶液，制备成0.05、0.5、1 mg/kg的添加样品，每个添加水平做5个平行，同时做2个空白样品（不加标准溶液）和1个全溶剂空白样品（不加样品和标准溶液），计算回收率和相对标准偏差，评价检测方法有效性。

1.8　计算

按式（1）（2）分别计算比斜率和回收率。

$$K/\%=\frac{A_m}{A_c}\times 100 \quad (1)$$

式中：K为比斜率，A_m表示空白基质中标准曲线的斜率，A_c表示纯溶剂中标准曲线的斜率。

$$r/\%=\frac{C_s}{C_t}\times 100 \quad (2)$$

式中：r为回收率，%；C_s为样品的检测浓度，mg/kg；C_t为添加浓度，mg/kg。

(C)1994-2023 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

2　结果与分析

2.1　检测方法线性相关性分析

甲哌鎓的溶剂空白、小麦籽粒空白基质溶液、小麦秸秆基质空白溶液标准曲线方程和相关系数见表3。在0.005～0.5 mg/L线性范围内，标准曲线线性回归方程的相关系数均大于0.999，表明检测方法的线性关系良好。

表 3　甲哌鎓标准工作曲线

类别	曲线方程	相关系数
溶剂空白	y=90 710.7x＋113.03	0.999 791
小麦籽粒空白基质	y=117 107x＋145.052	0.999 573
小麦秸秆空白基质	y=118 683x- 69.427 7	0.999 017

根据添加回收试验得出，甲哌鎓在小麦籽粒和秸秆的定量限均为0.05 mg/kg，最小检出量均为0.025 ng。

2.2　基质效应评价

检测溶剂空白和基质空白（小麦籽粒、秸秆），在目标峰位置的干扰峰响应均满足不超过30%定量限峰响应的要求[13]。

基质匹配标准曲线与标准曲线斜率的比值（K）可用来表示基质效应的强弱[14]。K大于1为基质增强效应，小于1为弱基质效应，越接近1，基质影响越小。根据表3计算，小麦籽粒和秸秆空白基质的K值分别为1.29和1.30，均为基质增强效应，为提高检测准确度，本研究样品检测均使用基质的标准曲线。

2.3　正确度和精密度分析

甲哌鎓在小麦中的MRL值为0.5 mg/kg，因此添加浓度设置为0.05、0.5 mg/kg和1 mg/kg，符合准则中规定：如果已制定相关MRL值，添加水平应包括MRL值和检测方法定量限[13]。从表4可知，甲哌鎓在小麦籽粒和小麦秸秆中平均回收率分别为91%～103%和78%～84%；相对标准偏差分别为2.3%～6.6%和2.8%～8.9%。试验结果表明检测方法正确度和精密度良好，稳定可靠。

表 4　甲哌鎓加标平均回收率及相对标准偏差（n=5）

基质	添加水平/(mg·kg^{-1})	平均回收率/%	相对标准偏差/%
小麦籽粒	0.05	91	6.6
	0.5	103	2.3
	1	102	2.4
小麦秸秆	0.05	84	8.9
	0.5	79	2.8
	1	78	2.9

3　结论

本研究建立了一种超高液相色谱-串联质谱法测定小麦中甲哌鎓残留量的分析方法。该检测方法在0.005～0.5 mg/L范围内，线性关系良好。添加水平为0.05、0.05 mg/kg和1 mg/kg时，方法回收率为78%～103%，相对标准偏差为2.3%～8.9%。该分析方法的灵敏度和精确性满足农药残留化学评估的监管MRL和膳食摄入评估的残留量检测需求，具有操作简便、检测结果准确等优点，可用于甲哌鎓在小麦中的残留检测分析。

参考文献

[1] C.马克比恩.《农药手册》第16版[M]. 胡笑形, 译. 北京: 化学工业出版社, 2015: 649-650.

[2] 党增青. 20.8%烯效·甲哌鎓在小麦上的应用效果试验[C]. //河南省植物病害研究进展——河南省植物病理学与现代农业学术讨论会论文集, 2011: 223-225.

[3] 石文君, 孙妍, 刘强, 等. 抗倒剂对小麦抗倒伏能力、长势及产量的影响[J]. 农业科技通讯, 2019(9): 108-110.

[4] 中华人民共和国国家卫生健康委员会, 中华人民共和国农业农村部, 国家市场监督管理总局. GB 2763—2021 食品安全国家标准 食品中农药最大残留限量[S]. 北京: 中国农业出版社, 2021.

[5] 农业农村部. 关于再次征求农药登记残留试验待测残留物和植物源性食品膳食风险评估残留物目录意见的函[EB/OL]. (2021-01-05) [2022-12-20]. http://www.moa.gov.cn/xw/bmdt/202101/t20210105_6359468.htm.

[6] 刘峰, 张晓波, 任红波, 等. 大豆与土壤中胺鲜酯和甲哌鎓的残留分析[J]. 农药, 2013, 52(8): 585-586; 608.

[7] 李敏敏, 刘新刚, 董丰收, 等. 80%胺鲜酯·甲哌鎓在棉花和土壤中的残留及消解动态[J]. 环境化学, 2013, 32(2): 289-294.

[8] 田晓莉, 谢湘毅, 周春江, 等. 植物生长调节剂甲哌鎓在土壤中的降解及其影响因子[J]. 农业环境科学学报, 2008, 27(5): 1726-1731.

[9] 刘茜, 张宪, 毛建霏, 等. 复配型植物生长调节剂10%多效唑·甲哌鎓可湿性粉剂在水稻上的残留风险评估及应用[J]. 农药, 2021, 60(4): 285-289.

[10] 陈建波, 马琳, 黄兰淇, 等. 离子色谱法测定水溶性肥料中矮壮素和甲哌鎓的含量[J]. 农药, 2022, 61(4): 271-273.

[11] 朱作艺, 张玉, 王君虹, 等. 离子色谱法同时测定植物生长调节剂中氯化胆碱、甲哌鎓及N-甲基哌啶[J]. 浙江大学学报(理学版), 2019, 46(3): 333-338.

[12] 张涛, 陈丹丹, 任丽萍, 等. 共振光散射法测定甲哌鎓水剂中的氯含量[J]. 农药, 2006, 45(2): 111-112; 124.

[13] 中华人民共和国农业农村部. NY/T 788—2018 农作物中农药残留试验准则[S]. 北京: 中国农业出版社, 2018.

[14] 周莉, 王新全, 徐浩, 等. 液相色谱-串联质谱法测定叶菜类蔬菜中16种农药的基质效应研究[J]. 理化检验(化学分册), 2011, 47(12): 1398-1401.

（责任编辑：金兰）

(C)1994-2023 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net