

# 多壁碳纳米管-气相色谱/串联质谱法测定杨梅中氟虫腈及其代谢物残留量

赵健, 陈国, 叶宇飞, 吕燕  
(宁波市农业科学研究院, 浙江 宁波 315101)

## Determination of Fipronil and Its Metabolites in Waxberry by Multi-walled Carbon Nanotube Coupled with Gas Chromatography-tandem Quadrupole Mass Spectrometry

Zhao Jian, Chen Guo, Ye Yufei, Lv Yan (Ningbo Academy of Agricultural Sciences, Zhejiang Ningbo 315101, China)

**Abstract:** A gas chromatography-tandem quadrupole mass spectrometry (GC-MS/MS) method was developed for the determination of fipronil and its metabolites in waxberry. The sample was extracted with acetonitrile, and then cleaned up using multi-walled carbon nanotube, and detected by GC-MS/MS. Fipronil and its metabolites were detected by multiple reaction monitoring (MRM) mode in the positive ion mode. The linear ranges were from 10 to 500  $\mu\text{g/L}$  with the correlation coefficients above 0.99 for both fipronil and its metabolites. The average recoveries of fipronil and its metabolites in waxberry at the three spiked levels were 85.5%~104% with the relative standard deviations of 2.7%~8.1%. The limits of detection were 0.1~0.5  $\mu\text{g/kg}$ . The method is rapid, accurate, reproducible, sensitive and easy to apply, and suitable for the determination of fipronil and its metabolites in waxberry.

**Key words:** multi-walled carbon nanotube; gas chromatography-tandem quadrupole mass spectrometry; fipronil and its metabolites; waxberry

**摘要:** 建立杨梅中多壁碳纳米管-气相色谱/串联质谱法同时测定氟虫腈及其代谢物(氟甲腈、氟虫腈砒和氟虫腈亚砒)。样品经乙腈提取,多壁碳纳米管净化,气相色谱/串联质谱仪测定,基质外标法定量。氟虫腈及代谢物在10~500  $\mu\text{g/L}$ 范围内具有良好的线性关系( $r>0.99$ );在3个不同浓度加标水平下,氟虫腈及其代谢物的平均回收率为85.2%~104%之间,RSD为2.7%~8.1%之间,方法的定量限为0.1~0.5  $\mu\text{g/kg}$ 之间。该方法简便、快速、准确、重现性好、灵敏度高,适用于杨梅中多种氟虫腈及其代谢物的同时检测。

**关键词:** 多壁碳纳米管; 气相色谱/串联质谱; 氟虫腈及其代谢物; 杨梅

中图分类号: S482.3; S481<sup>+</sup>.8 文献标识码: A 文章编号: 1002-5480 (2015)11-46-05

收稿日期: 2015-06-29

作者简介: 赵健,男,高级农艺师,主要从事农兽药残留分析。联系电话: 0574-87928062; E-mail: akjw2002@163.com。

锐劲特, 通用名氟虫腈, 是农业组织推广使用的15种淘汰高毒、高残留农药替代药剂之一。主要用于水稻、蔬菜、果树等作物的害虫防治, 效果良好, 但使用中存在一定的风险。<sup>[1]</sup>在使用氟虫腈后, 通过环境中的还原、氧化和光解等作用产生多种有毒代谢物, 除了氟虫腈外, 其代谢产物MB46513及MB46136等也都有毒性。实验结果表明, 对脊椎动物来说, 从平均值看, MB46136的毒性是氟虫腈的6倍, MB46513是氟虫腈原药的9倍<sup>[2]</sup>, 因此从安全角度考虑, 分析氟虫腈及其代谢物的残留总和更有意义。

目前国内氟虫腈检测技术已有多篇报道, 主要采用的仪器有气相色谱-电子捕获检测法(GC-ECD)<sup>[3-5]</sup>、气相色谱-质谱法(GC-MS)<sup>[4,6-8]</sup>和液相色谱/串联质谱法<sup>[9-10]</sup>、液相色谱法<sup>[11]</sup>和气相色谱/串联质谱法<sup>[12]</sup>等; 但未发现使用多壁碳纳米管净化, 气相色谱/串联质谱法同时测定氟虫腈及其代谢物的文献报道。

本文在已有研究的基础上建立了用多壁碳纳米管-气相色谱/串联质谱法同时测定杨梅中氟虫腈及其代谢物残留的分析方法, 其灵敏度、精密度和检出限都符合农药残留分析要求。

## 1 实验部分

1.1 试剂及标准品 乙腈、丙酮为色谱纯; 氯化钠为分析纯。多壁碳纳米管XFM1(南京先丰纳米材料科技有限公司), 活性炭(天津博纳艾杰尔科技有限公司)和PSA(天津博纳艾杰尔科技有限公司); 氟虫腈、氟甲腈、氟虫腈砒和氟虫腈亚砒标准样品: 1 000mg/L, 农业部环境保护科研监测所; 供试杨梅购于当地农贸市场, 将杨梅用组织捣碎机匀浆, 贮于-18℃冰箱中备用。

1.2 仪器 Agilent7890A/7000A气相色谱/串联质谱仪(美国Agilent公司); IKA T25 匀浆机(德国IKA公司); SIGMA 3K15 离心机(德国SIGMA公司); N-EVAP 氮吹仪(美国美国Orngnomation公司)。

1.3 溶液配制 混合标准储备液的配制: 称取氟虫腈及其代谢物标准品(精确至0.000 1mg), 用丙酮配成1 000mg/L的储备液, 于-18℃冰箱中避光保存, 使用前将标准储备液稀释至实验所需的标准系列溶液。

### 1.4 测定步骤

1.4.1 提取 准确称取样品25.00g, 置于250mL匀浆瓶中, 加入50.0mL乙腈, 匀浆仪上10 000r/min匀浆2min静置15min后用滤纸过滤, 滤液收集到装有10g氯化钠的100mL具塞量筒中, 盖上盖子剧烈震荡1min, 在室温下静置30min, 使乙腈相和水相充分分层。

1.4.2 净化 从100mL具塞量筒中吸取乙腈相10.00mL至10mL离心管中, 在60℃水浴条件下氮气吹至近干, 加入2mL丙酮溶解后, 再加入20mg多壁碳纳米管, 盖上盖子振荡1min, 将上清液过0.22μm滤头到2mL进样小瓶, 待进样。

### 1.5 仪器条件

1.5.1 气相色谱条件 色谱柱: Agilent DB-5MS, 30m×0.25mm×0.25μm; 柱温升温程序为70℃保持4min, 以10℃/min加热到180℃保持3min, 再以15℃/min加热到280℃保持10min; 进样口温度250℃, 传输温度280℃。

1.5.2 串联质谱条件 离子源: EI; 扫描方式: 正离子扫描; 检测方式: 多反应监测(MRM); 离子源温度300℃, MS1和MS2四极温度均为150℃; 氟虫腈及其代谢物质谱参数(表1)。

表1 氟虫腈及其代谢物MRM质谱采集参数

化合物	母离子	子离子对	碰撞能量(V)
氟甲腈	387.7	333*; 280.7	20; 40
氟虫腈砒	382.7	255*; 212.9	20; 30
氟虫腈	366.6	212.8*; 254.9	40; 20
氟虫腈亚砒	350.6	255*; 228	20; 40

注: \*为定量离子。

## 2 结果

2.1 提取液的选择 杨梅基质复杂、含水量多,为取得较好回收率,选择乙腈、甲醇和丙酮等3种可与水互溶的试剂作为提取液。结果表明,丙酮提取虽能得到较好回收率,但是必须通过二氯甲烷等溶剂萃取;甲醇提取效果虽然也可满足要求,但是无法通过液液分配和盐析等方法将甲醇相和水相有效分离,增加了繁琐的前处理步骤,不利于气相色谱/串联质谱仪快速分析;乙腈极性大、穿透性强,并且可以通过盐析将有机相和水相分离。因此,选择乙腈作为提取剂。

2.2 净化条件的选择 气相色谱/串联质谱仪MRM模式,可有效减少基质对检测结果的影响。但因试样提取液中含有大量共提杂质,这些杂质有的在谱图中并未出峰,但如果长期进入仪器,将严重影响分析仪器的灵敏度和仪器工作状态。所以,对提取液进行适当的净化是非常有必要的。因为提取液为乙腈,样液中中性和极性杂质居多,所以试验中选择多壁碳纳米管、PSA和活性炭作为净化材料;为取得较好的净化效果,试验选择在乙腈浓缩丙酮定容后添加净化材料的方式;净化材料选择用量为10、20、30和40mg。结果表明,PSA虽然能取得较好回收率,但是色素去除能力较差;活性炭较好的脱除了色素,但回收率只能达到60%~80%之间;多壁碳纳米管在20和30mg时回收率可达到80%~110%之间,并且可有效的脱除色素,所以选择多壁碳纳米管作为净化材料,使用量20mg。

2.3 色谱柱程序升温条件的优化 使用DB-5MS作为分析用色谱柱,为得到分离度较好分离度、峰形和灵敏度,对程序升温进行了优化。因氟虫腈和氟虫腈亚砷在离子源打碎后,有相同分子量并可打出相同子离子的母离子产生,如果升温采用冷柱头,升温速率高于20°C/min,两种物质分离度变差。为得到较好分离度,本文在采用冷柱头的基础上,将程序升温速度降缓到

10~15°C/min,获得了较好的分离度和峰形。

2.4 氟虫腈及其代谢物质谱参数的优化 气相色谱/串联质谱仪MRM模式通过选择特征母离子与子离子,可有效减少基质对检测结果的影响,又充分保证了检测所要求的高灵敏度。本文首先对农药混标进行全扫描确定目标化合物的保留时间,选择离子质量数较高并有较高丰度的离子作为母离子;利用二级质谱获得母离子全扫描质谱图,找到合理断裂、稳定的特征子离子;并通过优化选择出农药组分选定的子离子最佳的碰撞能量。

### 2.5 方法学验证

2.5.1 杨梅基质效应 含有-N=基团的农药通常表现出较强的基质效应<sup>[13]</sup>,氟虫腈及其代谢产物均含此结构。而杨梅含有丰富的糖类和蛋白质等杂质,虽经过多壁碳纳米管净化,但残存的杂质仍可能对药物产生较强的基质效应,对检测结果造成影响。为探明杨梅基质是否存在基质效应,分别使用基质标样标准曲线和纯标样标准曲线对杨梅20μg/kg添加样品回收率进行计算(图1)。结果表明,使用基质标样标准曲线计算得到的回收率明显<纯标样标准曲线计算得到的回收率,其中氟甲腈比值最大达1.97倍,说明杨梅样液中杂质对氟虫腈及其代谢产物均呈明显的基质增强效应,所以使用基质标样计算。

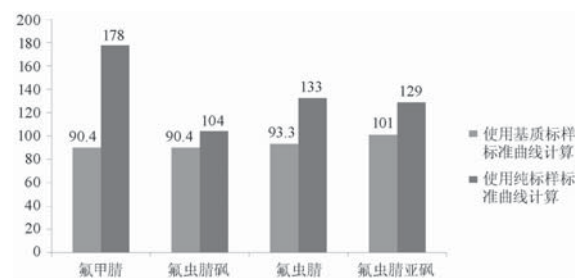


图1 杨梅中氟虫腈及其代谢产物的回收率

2.5.2 定量下限 (LOQ) 与基质标准曲线 在杨梅基质空白样品中,添加一定浓度标准溶液,按照色谱峰信噪比>10 (S/N) 和前处理过程,

计算得氟虫腈及其代谢物的定量下限；根据氟虫腈及其代谢物的定量下限进行添加回收试验进行验证，信噪比均>10，回收率在80%~110%之间。

在选定的色谱分离条件和质谱测定参数下，测定10、50、100、200和500 $\mu\text{g/L}$ 的5个水平的系列混合标准工作溶液，氟虫腈及其代谢物的峰面积为纵坐标，质量浓度 ( $\mu\text{g/L}$ ) 为横坐标绘制标准工作曲线，结果显示，氟虫腈及其代谢物

在质量浓度为10~500 $\mu\text{g/L}$ 范围内的线性关系良好，相关系数在0.998 2~0.999 8之间。

2.5.3 回收率与精密度 取杨梅基质空白样品，做3个水平的标准加标回收实验，每个加标水平做5次平行测定，结果显示，各氟虫腈及其代谢物的平均回收率为85.2%~104%，RSD为2.7%~8.1%，满足杨梅中氟虫腈及其代谢物的定性定量分析要求，结果（表2），标准溶液、样品空白和空白样品添加色谱图(图2~4)。

表2 氟虫腈及其代谢物的添加回收率、相对标准偏差和定量下限

	2 $\mu\text{g/kg}$		20 $\mu\text{g/kg}$		200 $\mu\text{g/kg}$		定量下限 ( $\mu\text{g/kg}$ )
	平均回收率 (%)	RSD (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)	
氟虫腈	89.7	3.8	90.4	8.1	97.1	5.1	0.2
氟虫腈砒	85.2	7.4	90.4	5.9	98.4	5.0	0.1
氟虫腈	88.3	4.1	93.3	3.6	104.0	4.1	0.5
氟虫腈亚砒	92.7	2.7	101.0	8.0	97.2	2.1	0.2

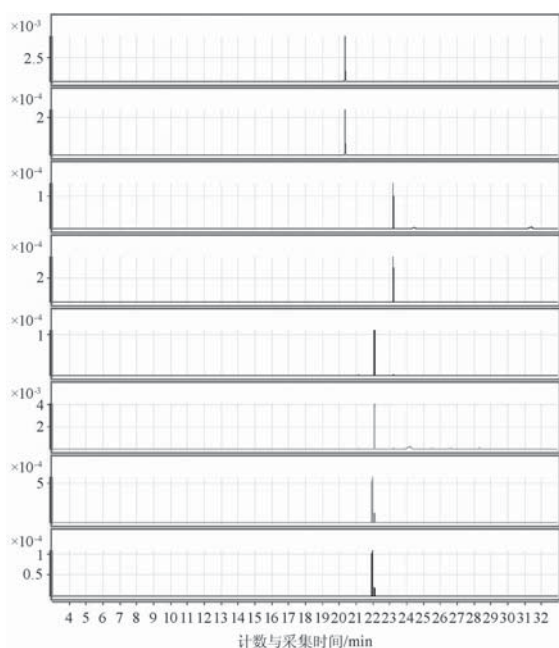


图2 标准溶液MRM色谱图

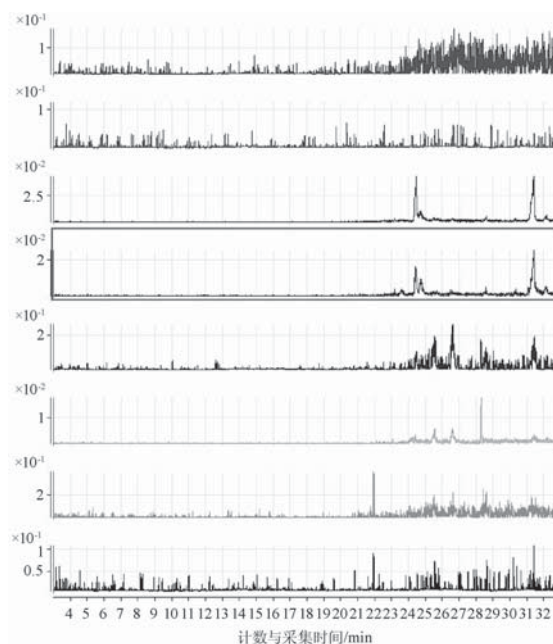


图3 样品空白MRM色谱图

参考文献

[1] 张祥丹, 刘国光. 锐劲特在环境中的降解及其毒理学研究进展[J]. 环境与健康杂志, 2009, 26(8): 749-751.  
 [2] 柏再苏. 锐劲特及其代谢和光降解产物毒性综述[J]. 现

代农药, 2003(2): 1-3.  
 [3] 何艺兵. 氟虫腈在甘蓝和土壤中的残留分析方法 [J]. 农药科学与管理[J]. 2000, 21(3): 17-19.  
 [4] 周显, 徐敦明, 陈达捷, 等. 固相微萃取-气相色谱法和

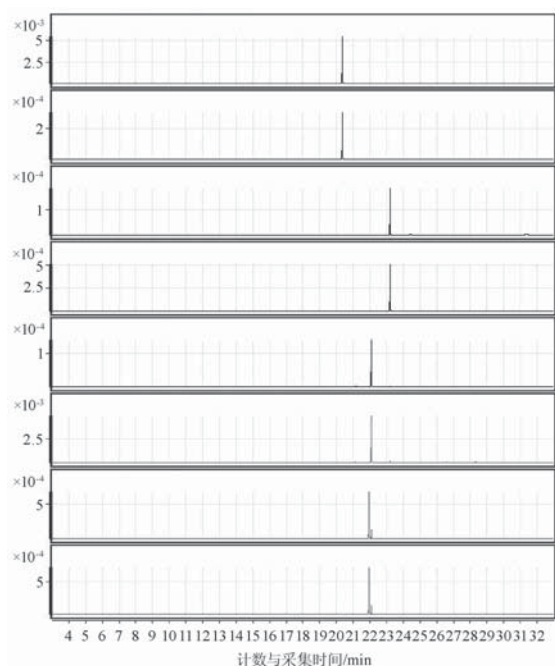


图4 添加回收MRM色谱图

气相色谱-质谱法测定茶叶中氟虫腈及其代谢物残留[J]. 色谱, 2011, 29(7): 656-661.

- [5] 付晓芳, 林雁飞, 李晶, 等. 茶叶中氟虫腈残留量的检测[J]. 食品科学, 2010, 31(10): 279-282.
- [6] 陈志涛, 丁立平, 吴文凡, 等. 分散固相萃取-气相色谱

法测定水产品中氟虫腈和丁烯氟虫腈的残留[J]. 农药, 2014, 53(12): 904-905.

- [7] 曹维强, 赵海田, 余永新, 等. 气相色谱-质谱联用对菠菜中丁烯氟虫腈残留的检测[J]. 分析测试学报, 2009, 28(9): 1096-1099.
- [8] 陈珊珊, 丁丞, 郭立新, 等. 气相色谱-负化学电离-质谱联用技术检测痕量氟虫腈及代谢物的漂移对池塘水和虾体的影响[J]. 质谱学报, 2013, 34(5): 274-281.
- [9] 刘春华, 尹桂豪, 乐渊, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法快速测定豇豆中氟虫腈等8种农药残留[J]. 广东农业科学, 2013(11): 73-76.
- [10] 胡贝贞, 蔡海江, 宋伟华. 茶叶中氟虫腈等8种农药残留的液相色谱-串联质谱法测定及不确定度评定[J]. 色谱, 2012, 30(9): 889-895.
- [11] 陈晓宇, 邱相军, 卢中秋, 等. 兔血浆中氟虫腈及其砷化物的高效液相色谱分析法[J]. 温州医学院学报, 2007, 37(4): 353-356.
- [12] 薄海波. 气相色谱-串联质谱正离子模式测定食品中氟虫腈和溴虫腈残留[J]. 中国食品卫生杂志, 2013, 25(5): 431-434.
- [13] Hajslová J, Zrostlíková J. Matrix effects in (ultra) trace analysis of pesticide residues in food and biotic matrices. J Chromatogr A, 2003, 1000: 181-197.

(上接第42页)

采用气相色谱电子捕获检测器定量法检测, 脲菌酯最低检出限 (LOD) 为0.032mg/kg。本实验采用的方法已经满足了低含量脲菌酯样品的检测要求。

经试验验证, 在低浓度和高浓度范围内, 脲菌酯的相关系数为0.999 6, 在黄瓜和土壤中的回收率分别为92.02%~115.24%和75.00%~84.76%之间, 精密度<8.70%。

综上所述, 本方法可适用于黄瓜和土壤中脲菌酯的测定, 具有快速、准确、灵敏度高等优点, 方法灵敏度高、选择性更优、重现性更好。

#### 参考文献

- [1] 周凤霞, 等. 气相色谱法同时测定蔬菜中醚菌酯和脲菌酯残留量的方法研究[J]. 农业环境与发展, 2009(4).
- [2] 邓曼, 等. 气相色谱法同时检测水果中氟吡菌酰胺、脲菌酯及其代谢物脲菌酸的残留量[J]. 农药学报, 2013(6).