

UPLC-MS/MS 测定茶叶中邻苯二甲酰胺类杀虫剂氟苯虫酰胺含量

杨惟喜 (南平市产品质量检验所, 福建南平 353000)

摘要 [目的]建立一种高效、快速可直接测定茶叶中邻苯二甲酰胺类杀虫剂氟苯虫酰胺的超高效液相色谱-串联质谱(UPLC-MS/MS)检测方法。[方法]茶叶样品经粉碎、涡旋、离心、浓缩、石墨碳-氨基固相萃取柱净化、定容后,采用 BEH C₁₈ 柱(1.7 μm, 2.1 mm×150 mm)进行梯度洗脱分离,流动相为 2 mmol 乙酸铵-0.02%甲酸水溶液与甲醇体系,流速 0.3 mL/min。[结果]茶叶中邻苯二甲酰胺类杀虫剂氟苯虫酰胺在 1.6~80.0 ng/mL 线性关系良好($R^2=0.999\ 36$),检出限为 0.007 1 μg/kg,定量限小于 0.024 0 μg/kg,加标回收率为 95.4%~104.2%,相对标准偏差(RSD)为 0.7%~1.9%($n=3$)。[结论]该方法分析速度快、灵敏度高、选择性好,适用于茶叶中邻苯二甲酰胺类杀虫剂氟苯虫酰胺的快速检测和定量分析。

关键词 超高效液相色谱-串联质谱;茶叶;邻苯二甲酰胺类杀虫剂;氟苯虫酰胺

中图分类号 TS 272.7 **文献标识码** A

文章编号 0517-6611(2022)21-0196-03

doi:10.3969/j.issn.0517-6611.2022.21.049

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



Determination of Phthalamides Insecticide Flubendiamide in Tea by UPLC-MS/MS

YANG Wei-xi (Nanping Product Quality Inspection Institute, Nanping, Fujian 353000)

Abstract [Objective] To establish a high-efficiency and rapid method for the direct determination of the phthalamide insecticide flubendiamide in tea by ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS). [Method] The tea samples were pulverized, vortexed, centrifuged, concentrated and purified by graphite carbon amino solid phase extraction column. The chromatographic separation was carried on the BEH C₁₈ column (1.7 μm, 2.1 mm×150 mm) in gradient mode. The mobile phase were 2 mmol NH₄Ac -0.02% formic acid and methanol, and the flow rate was 0.3 mL/min. [Result] The phthalamide insecticide flubendiamide in tea had a good linear relationship in the range of 1.6~80.0 ng/mL ($R^2=0.999\ 36$), the detection limit was 0.007 1 μg/kg, the quantification limit was 0.024 0 μg/kg, and the recovery rate of standard addition was 95.4%~104.2%, and the relative standard deviation (RSD) was 0.7%~1.9% ($n=3$). [Conclusion] The method has fast analysis speed, high sensitivity and good selectivity, and is suitable for the rapid detection and quantitative analysis of the phthalamide insecticide flubendiamide in tea.

Key words UPLC-MS/MS; Tea; Phthalamides insecticide; Flubendiamide

氟苯虫酰胺是一种广泛使用的邻苯二甲酰胺类杀虫剂,具有独特的作用方式,高效广谱、残效期长、毒性低,用于防治鳞翅目害虫^[1],对除虫菊酯、有机磷等多类已产生抗性的小菜蛾幼虫具有良好的活性^[2-3],主要用于蔬菜、水果、水稻、棉花和茶树虫害防治,对成虫和幼虫均有优良活性,作用迅速、持效期长,其应用潜力巨大^[4]。目前国内对于邻苯二甲酰胺类杀虫剂氟苯虫酰胺的检测方法研究主要集中在果蔬^[5-6]、粮谷油料作物^[7]及动物性食品^[8]等方面,对茶叶中氟苯虫酰胺检测技术的研究较少。同时我国 GB 2763—2021《食品安全国家标准 食品中农药残留最大限量》未规定茶叶中的氟苯虫酰胺最大限量,而欧盟、美国与中国香港关于茶叶中氟苯虫酰胺的建议限量值分别为 0.02、50、50 mg/kg。因此需要建立与完善测定茶叶中邻苯二甲酰胺类杀虫剂氟苯虫酰胺检测方法。

超高效液质联用仪具有灵敏度高、选择性强等优点,可有效避免基质的干扰影响,具有良好的定性定量功能。该研究采用超高效液质联用仪测定茶叶样品中邻苯二甲酰胺类杀虫剂氟苯虫酰胺,同时采用固相萃取法对茶叶样品进行净化处理,并应用于不同类别茶叶样品含量的测定,为茶叶中邻苯二甲酰胺类杀虫剂氟苯虫酰胺的快速检验和定性定量分析提供了技术支持。

1 材料与方法

1.1 试材 氟苯虫酰胺(Flubendiamide, CAS 号 272451-65-

7)标准品,纯度≥99%,购于美国 First Standard 公司;甲酸(色谱纯,德国 Merck 公司);乙酸铵(色谱纯,美国 Sigma 公司);乙腈、甲醇(色谱纯,山东禹王公司),水为自制纯水(电导率>18.2 MΩ)。石墨碳-氨基固相萃取小柱,500 mg/500 mg/6 mL。

1.2 仪器 液相色谱仪 LC-30AD(日本 Shimadzu 公司);三重四级杆串联质谱 AB 5500(美国 AB SCIEX 公司);高速冷冻离心机 Aanti J-E(美国贝克曼公司);超纯水系统 Milli-Q(美国 Millipore 公司);旋涡混合器 MS 3 basic(德国 IKA 公司)。

1.3 试验方法

1.3.1 标准溶液的配制。准确称取适量的氟苯虫酰胺标准品,用乙腈配制浓度为 100 μg/mL 的储备液,该储备液置于 4℃冰箱中避光密封保存。使用前将标准储备液稀释为 0.800 μg/mL 的中间液,并进而分别用 70%乙腈逐级稀释成 80.0、32.0、16.0、8.0、3.2、1.6 ng/mL 共 6 个不同浓度水平的标准工作液,待上机测试。

1.3.2 样品前处理。准确称取经粉碎的茶叶样品 2 g,并置于 50 mL 塑料离心管中,依次加入 5 mL 水静置 0.5 h;加入 20 mL 乙腈以 10 000 r/min 均质 1 min,再加入 2 g 氯化钠涡旋摇匀,并于 4 000 r/min 离心 3 min,移取上层有机相,残渣再加入 15 mL 乙腈,重复提取 1 次,合并移取的上层有机相,并在 40℃水浴中浓缩至近干。用 2 mL 乙腈-甲苯溶液(3:1)洗涤浓缩瓶中残留物,并全部转入已活化的石墨碳-氨基固相萃取柱中,再重复洗涤 2 次,并用 15 mL 乙腈-甲苯溶液(3:1)淋洗石墨碳-氨基固相萃取小柱,小柱流速约 1.0 mL/min,收集全部流出液,于 40℃水浴中浓缩,并氮吹

作者简介 杨惟喜(1968—),男,福建南平人,高级工程师,从事产品质量检测技术研究。

收稿日期 2022-06-06;修回日期 2022-06-20

至近干,用乙腈-水溶解残渣并定容至 2.0 mL,过 0.22 μm 滤膜后上机测试。

1.3.3 液相色谱条件。色谱柱为 BEH C₁₈ 柱(1.7 μm, 2.1 mm×150 mm);柱温 40 ℃;进样量 2.0 μL;流速 0.3 mL/min;流动相为 2 mmol 乙酸铵-0.02% 甲酸水溶液(A)和甲醇(B),梯度洗脱,优化后的梯度洗脱为 0~7 min, 90% B;7~9 min, 50% B;9~10 min, 50% B。

1.3.4 质谱条件。电喷雾源(ESI)为负离子模式(ESI⁻);多反应监测模式(MRM);离子源温度 550 ℃;电喷雾电压 5 500 V;气帘气压力 0.21 MPa;喷雾气压力 0.38 MPa;辅助加热气压力 0.38 MPa。定性离子对、定量离子对及其他质谱参数见表 1。

表 1 氟苯虫酰胺 ESI⁺与 ESI⁻模式下分析的质谱参数
Table 1 Mass spectrometry parameters for flubendiamide with ESI⁺ and ESI⁻ mode

电离模式 Ionization mode	离子对 Ion pair	去簇电压 Declustering voltage//V	碰撞能量 Collision energy eV
ESI ⁺	705.0/531.1	55	150
	705.0/571.1	45	150
ESI ⁻	681.1/254.0*	-35	-30
	681.1/274.0	-35	-20

注: * 为定量离子对
Note: * is the quantitative ion pair

2 结果与分析

2.1 仪器条件的优化

2.1.1 质谱条件的优化。移取适量氟苯虫酰胺标准储备液(100 μg/mL),用 70% 乙腈稀释成浓度为 0.8 μg/mL 的标准工作液,上机测试。根据氟苯虫酰胺化合物的性质,分别采用正离子模式和负离子模式扫描。采用正离子模式,可得到强度较大的钠加合分子离子峰[M+Na]⁺,其质荷比(*m/z*)为 705.0,继续进行产物离子扫描,分别得到其相应主要碎片离子 *m/z* 531.1 和 *m/z* 571.1;采用负离子模式,可得到强度较大的脱氢分子离子峰[M-H]⁺,其质荷比(*m/z*)为 681.1,继续进行产物离子扫描,分别得到其相应主要碎片离子 *m/z* 254.0 和 *m/z* 274.0,其可能的质谱裂解结构见图 1。进而进一步分别优化不同扫描模式下氟苯虫酰胺的去簇电压及碰撞能量等相关参数,确定最优定量定性离子对,详见表 1。同

时分别比较了不同离子扫描模式下的仪器响应和样品检测灵敏度,结果表明,负离子扫描模式的检测灵敏度显著高于正离子模式检测灵敏度,在负离子模式下,仪器噪音小、干扰少、目标组分信噪比更高,茶叶中氟苯虫酰胺检测限为 0.007 1 μg/kg;而正离子模式下,茶叶中氟苯虫酰胺检测限为 1.200 0 μg/kg。因而采用负离子模式对茶叶中氟苯虫酰胺进行检测。

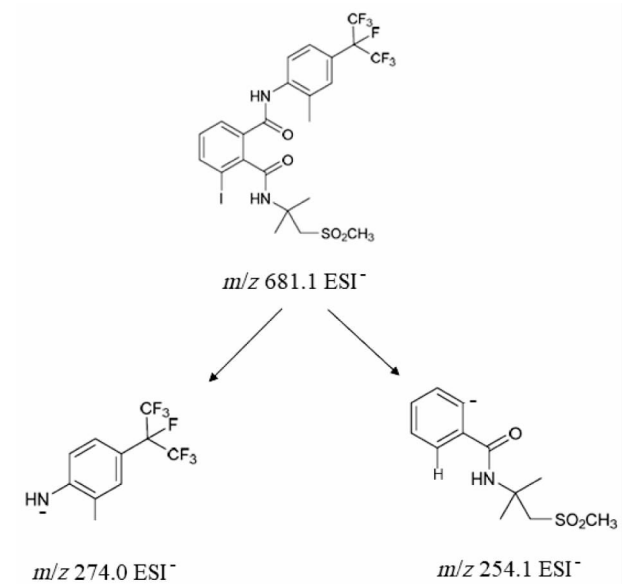


图 1 邻苯二甲酰胺双酰胺氟苯虫酰胺的结构式及其在 ESI⁻ 模式下质谱母离子及子离子可能裂解结构
Fig.1 Structural formula of phthalamide bisamide flubeniliprole and its possible fragmentation structures of precursor ions and product ions in ESI⁻ mode

2.1.2 液相条件的优化。采用 Shimadzu LC-30AD UPLC 超高效液相色谱仪和 1.7 μm 粒径的 BEH C₁₈ 超高效液相色谱柱,具有极高的分离效率。分别考察了纯水/甲醇体系、纯水/乙腈、2 mmol 乙酸铵水溶液/甲醇、2 mmol 乙酸铵水溶液/乙腈、2 mmol 乙酸铵-0.02% 甲酸水溶液/甲醇、2 mmol 乙酸铵-0.02% 甲酸水溶液/乙腈作为流动相的分离效果,结果表明,2 mmol 乙酸铵-0.02% 甲酸水溶液/甲醇具有较好的峰形、分离度和灵敏度,其出峰时间约为 4.55 min。氟苯虫酰胺的多反应监测(MRM)定量离子流图见图 2。

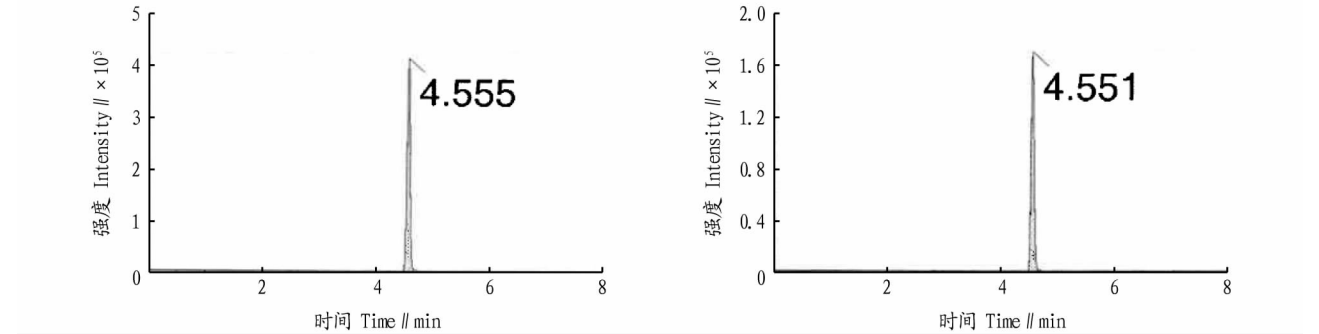


图 2 氟苯虫酰胺的多反应监测(MRM)定量离子流图
Fig.2 Multiple reaction monitoring(MRM) quantitative ion chromatogram of flubendiamide

2.2 前处理条件的优化 分别采用石墨碳-氨基固相萃取法与 QuEChERS 法净化茶叶样品,石墨碳-氨基固相萃取法按“1.3.2”方法操作;QuEChERS 法净化茶叶样品,先称取 2 g 试样于 50 mL 塑料离心管中,加入 10 mL 水涡旋混匀,静置 30 min,加入 15 mL 1%乙酸的乙腈溶液及 1 颗陶瓷均质子,剧烈振荡 1 min,加入 6 g 无水硫酸镁、1.5 g 乙酸钠,剧烈振荡 1 min 后 4 200 r/min 离心 5 min,定量吸取上清液至内含除水剂和净化材料的提取管中(每 1 mL 提取液使用 150 mg 无水硫酸镁、50 mg C₁₈、50 mg PSA 和 25 mg GCB),涡旋混匀 1 min,4 200 r/min 离心 5 min,吸取上清液过微孔滤膜后测试。通过加标测试比较表明,相对于 QuEChERS 法,石墨碳-氨基固相萃取法提取回收率大于 95%,显著高于前者(80%)。因而采用石墨碳-氨基固相萃取法净化测定茶叶样品中邻苯二甲酰胺类杀虫剂氟苯虫酰胺。

2.3 方法学考察

2.3.1 线性范围、检出限和定量限。以氟苯虫酰胺质谱响应峰面积作为纵坐标、质量浓度(ng/mL)作为横坐标,计算线性回归方程,得出其线性回归方程 $y = 9.614\ 91 \times 10^4 x + 7\ 768.807\ 3$ ($R^2 = 0.999\ 36$),表明在 1.6~80.0 ng/mL 氟苯虫酰胺具有良好的线性关系,检出限为 0.007 1 μg/kg,定量限为 0.024 0 μg/kg,满足分析方法要求^[9-10]。

2.3.2 准确度与精密度。以茶叶样品为基质,进行 3 水平 3 平行的加标回收试验,结果发现(表 2),氟苯虫酰胺在不同加标水平的平均回收率在 95.4%~104.2%,RSD 在 0.7%~1.9%,表明该方法满足分析要求,适用于茶叶中氟苯虫酰胺的定量分析。

2.4 实际样品检测 分别选取 8 份福建省当地茶叶样品,武夷岩茶、安溪铁观音、福鼎白茶、坦洋工夫红茶各 2 份,采用该研究建立的方法进行测定,每份样品平行测定 3 次,结果发现所有样品均未检出邻苯二甲酰胺类杀虫剂氟苯虫酰胺。

表 2 茶叶中氟苯虫酰胺测试的准确度、精密度和加标回收率
Table 2 Accuracy, precision and recovery rate of standard addition of flubendiamide in tea

加标水平 Spike level μg/kg	实测值 Measured value μg/kg	回收率 Recovery rate/%	RSD %
8.0	8.33	104.2	0.7
16.0	16.19	101.2	1.1
80.0	76.33	95.4	1.9

3 结论

该研究通过对茶叶样品的提取净化方法、色谱质谱参数的优化,建立了茶叶中邻苯二甲酰胺类杀虫剂氟苯虫酰胺的液质联用分析方法。该方法具有灵敏度高、分析速度快等特点,满足日常对茶叶中邻苯二甲酰胺类杀虫剂氟苯虫酰胺的快速测定要求,对提高茶叶品质具有重要的指导意义。

参考文献

[1] 殷畅,毕莹莹,韩丽君,等. 双酰胺类杀虫剂作用机制及其先导优化研究进展[J]. 世界农药,2021,43(2):15-33.
[2] 王成花,孙诗晴,徐巨龙,等. 抗氟苯虫酰胺小菜蛾差异表达基因及其通路[J]. 中国农业科学,2018,51(11):2106-2115.
[3] 华乃震. 水稻杀虫剂环保剂型 应用现状和未来发展趋势[J]. 农药市场信息,2011(14):15-18.
[4] 未来智库. 杀虫剂市场回顾与展望双酰胺类杀虫剂发展潜力巨大[J]. 农药市场信息,2020(4):35.
[5] 刘明雨,聂继云,沈友明,等. QuEChERS 结合超高效液相色谱-串联质谱法同时检测苹果中 11 种农药残留[J]. 农产品质量与安全,2022(3):54-60.
[6] 孙程鹏,许炳雯,高娜,等. Sin-QuEChERS 结合超高效液相色谱串联质谱法同时检测果蔬中 5 种双酰胺类杀虫剂[J]. 食品安全质量检测学报,2020,11(6):1784-1791.
[7] 黄美玲,林毅楠,周杨,等. 液相色谱串联质谱法测定油料作物中 3 种双酰胺类杀虫剂残留量[J]. 食品安全质量检测学报,2020,11(15):5099-5106.
[8] 何旭峰,黄小兰,肖琦,等. QuEChERS-超高效液相色谱-串联质谱法同时测定动物源性食品中 5 种双酰胺类杀虫剂的残留[J]. 食品安全质量检测学报,2021,12(20):7977-7985.
[9] 戴明,苏晓明,吴少明,等. UPLC-MS/MS 测定铁观音茶中 21 种游离氨基酸含量[J]. 化学研究与应用,2021,33(7):1410-1419.
[10] 吴少明,蔡小明,周鹏,等. 超高效液相色谱-串联质谱法同时测定水产品中 6 种丁香酚类物质的残留量[J]. 食品科学,2020,41(16):320-326.

(上接第 181 页)

0.05%高锰酸钾浸种 12 h,播种时,将种子与细土混合均匀撒播于苗床表面即可,浇水保湿。种子采集干燥后,若需贮藏至隔年种植,应放入-4℃进行冷藏。

参考文献

[1] 广东省食品药品监督管理局. 广东省中药材标准:第二册[M]. 广州:广东科技出版社,2011:347-353.
[2] 邓乔华,王德勤,黄勇,等. 溪黄草资源的调查与研究[C]//海峡两岸暨 CSNR 全国第十届中药及天然药物资源学术研讨会讨论文集. 南京:中国自然资源学会天然药物资源专业委员会,2012:151-153.
[3] 邓乔华,赵宇,王德勤,等. 溪黄草规范化种植示范基地的建设[J]. 现代中药研究与实践,2011,25(1):10-12.

[4] 张辰露,孙群,梁宗锁. 药用植物种子生理特性及处理技术[J]. 现代中药研究与实践,2005,19(1):59-64.
[5] 国家技术监督局. 农作物种子检验规程其他项目检验:GB/T 3543.7—1995[S]. 北京:中国标准出版社,1995.
[6] 张敏,朱教君,闫巧玲. 光对种子萌发的影响机理研究进展[J]. 植物生态学报,2012,36(8):899-908.
[7] 霍艳利,曲婷,高凯,等. 不同类型的少花茼蒿草种子萌发对水分和光照的响应[J]. 安徽农业科学,2022,50(4):51-56,63.
[8] 孙鹏,周道顺,梁臣,等. 高锰酸钾及植物激素对君迁子种子萌发的影响[J]. 东北林业大学学报,2014,42(6):19-23,82.
[9] 田茜,辛霞,卢新雄,等. 植物种子衰老与线粒体关系的研究进展[J]. 植物遗传资源学报,2012,13(2):283-287.
[10] 张海波,杨桂娟,高卫东,等. 香椿种子特定贮藏条件下活力变化的研究[J]. 林业科学研究,2019,32(2):152-159.