

· 专栏 ·

# 分散固相萃取-超高效液相色谱-串联质谱法 快速检测棉花和土壤中氟铃脲的残留

盛宇<sup>1,2</sup>, 徐军<sup>1</sup>, 刘新刚<sup>1</sup>, 董丰收<sup>1</sup>, 郑永权<sup>\*1</sup>

(1. 农业部农药化学与应用重点开放实验室/中国农业科学院植物保护研究所,北京 100193;

2. 东北农业大学农学院,哈尔滨 150030)

**摘要:**建立了分散固相萃取-超高效液相色谱-串联质谱快速检测棉花和土壤中氟铃脲残留的分析方法。样品采用乙腈提取, *N*-丙基乙二胺(PSA)净化,超高效液相色谱分离,电喷雾电离、负离子扫描,三重四级杆串联质谱检测以及基质匹配标准品的外标法定量。结果表明,在 0.005 ~ 0.5 mg/kg 添加水平范围内,氟铃脲的平均添加回收率在 71.1% ~ 110.0% 之间,相对标准偏差在 2.7% ~ 8.4% 之间。该方法对土壤、棉叶和棉籽 3 种基质中氟铃脲的检出限(LOD)分别为 0.04, 0.12, 0.22  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , 定量限(LOQ)分别为 0.14, 0.41, 0.74  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。方法灵敏度高、操作简便、定量准确、测定浓度范围宽,可用于氟铃脲在棉叶、棉籽和土壤中的残留分析。

**关键词:**分散固相萃取;超高效液相色谱-串联质谱;棉花;土壤;氟铃脲;残留

**DOI:**10.3969/j.issn.1008-7303.2010.03.10

中图分类号:O657

文献标志码:A

文章编号:1008-7303(2010)03-0294-05

## Simplified method for determination of hexaflumuron residues in cotton and soil using QuEChERS and UPLC-MS/MS

SHENG Yu<sup>1,2</sup>, XU Jun<sup>1</sup>, LIU Xin-gang<sup>1</sup>, DONG Feng-shou<sup>1</sup>, ZHENG Yong-quan<sup>\*1</sup>

(1. Key Laboratory of Pesticide Chemistry and Application, Ministry of Agriculture/  
Institute of Plant Protection, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100193, China;

2. College of Agriculture, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China)

**Abstract:** A rapid method for the determination of hexaflumuron residues in cotton and soil was established based on matrix solid-phase dispersion (QuEChERS) and ultraperformance liquid chromatography-mass spectrometry (UPLC-MS/MS). The sample was extracted by acetonitrile and purified on primary secondary amine (PSA). The mass spectrometer was operated with electrospray in the opposite ion mode (ESI<sup>-</sup>). The target analytes were quantified by external standard method and matrix-matched standard solution used to compensate for matrix effect. Average recoveries of hexaflumuron in soil and corn samples were found in the range of 71.1% - 110.0% at three spiking levels from 0.005 mg/kg to 0.5 mg/kg with relative standard deviations of 2.7% - 8.4%. Limits of detections (LOD) of hexaflumuron on soil, cotton leaf and cotton seed were 0.04, 0.12 and 0.22  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , while limits of quantifications (LOQ) were 0.14, 0.41 and 0.74  $\mu\text{g}/\text{kg}$ . The method is simple and

收稿日期:2010-06-09;修回日期:2010-08-17.

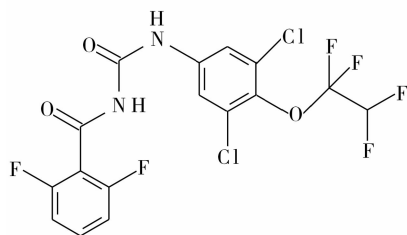
作者简介:盛宇(1985-),女,黑龙江双鸭山人,硕士研究生,E-mail:shengyu326@163.com; \* 通讯作者(Author for correspondence):郑永权(1962-),男,广东高州人,博士,研究员,主要从事农药残留与环境毒理研究,电话:010-62815908, E-mail:yongquan\_zheng@yahoo.com.cn

基金项目:“十一五”国家科技支撑计划项目(2009BADB7B03).

suitable for the routine and confirmation analysis on cotton leaf, cotton seed and soil.

**Key words:** matrix solid-phase dispersion (QuEChERS); UPLC-MS/MS; cotton; soil; hexaflumuron; residue

氟铃脲(hexaflumuron, 结构式如 I) 是一种苯甲酰脲类杀虫剂, 具有杀虫谱广、药效高、残留低、持效期长、选择性强等特点, 触杀及胃毒作用强<sup>[1]</sup>, 可有效防治棉花、蔬菜、果树、林木等上的多种害虫, 并对那些已对有机磷类、氨基甲酸酯类、拟除虫菊酯类杀虫剂产生抗性的害虫具有良好的防治效果<sup>[2]</sup>, 应用广泛。日本已规定氟铃脲在棉籽中的最大残留限量(MRL) 值为 0.05 mg/kg, 我国目前尚未制定氟铃脲在棉花上的 MRL 值, 因此研究氟铃脲在棉花上的残留分析方法具有一定的意义。



(I)

目前有关氟铃脲残留分析方法的报道较少。何红梅等<sup>[3]</sup>用乙腈提取, 弗罗里硅土柱净化, 采用高效液相色谱仪测定了黄瓜、大白菜、番茄和甘蓝中氟铃脲的残留; Huang 等<sup>[4]</sup>采用甲醇提取, 二氯甲烷萃取, 高效液相色谱法测定了大白菜中氟铃脲的残留量; 韩红新等<sup>[5]</sup>用乙酸乙酯提取, 高效液相色谱-质谱联用法(HPLC-MS) 检测了氟铃脲在蔬菜中的残留。仅见郭正元等<sup>[6]</sup>采用甲醇和二氯甲烷提取, 玻璃层析柱净化测定了氟铃脲在棉花上的残留量。但上述方法净化步骤比较繁琐、费时, 且溶剂使用量大。Anastassiades 等在 2003 年提出了分散固相萃取(QuEChERS) 快速前处理方法, 具有快速、简单、廉价、有效、可靠、安全等特点<sup>[7]</sup>。笔者在 QuEChERS 方法的基础上, 通过超高效液相色谱-串联质谱(UPLC-MS/MS) 快速检测, 建立了氟铃脲在棉花及土壤中的残留分析方法。现将结果报道如下。

## 1 材料与方法

### 1.1 药剂与仪器

氟铃脲(hexaflumuron) 标准品(纯度 98.0%, 国家标准物质中心提供); 15% 氟铃脲水分散粒剂

(WG, 北京华戎生物激素厂); 乙腈(色谱纯); 水(超纯水); *N*-丙基乙二胺(PSA, Agela Technologies 公司); 其余试剂均为分析纯。

超高效液相色谱-三重四级杆串联质谱(UPLC-MS/MS, Acquity-TQD, Waters 公司); Acquity uplc<sup>®</sup> BEH C<sub>18</sub> 色谱柱(50 mm × 2.1 mm, 1.7 μm) (Waters 公司); XW-80A 漩涡混合器(美国 Scientific industries 公司); TG16-WS 台式快速离心机(长沙湘仪离心机仪器有限公司); HR 1727/06/B 飞利浦粉碎机(珠海飞利浦家用电器有限公司); Filter Unit 滤膜(0.22 μm, Agela Technologies 公司)。

### 1.2 检测条件

1.2.1 液相色谱检测条件 采用二元梯度洗脱分离, 洗脱流动相参数见表 1, 进样体积 10 μL。

表 1 梯度洗脱参数

Table 1 Parameters for procedure of gradient elution

时间 Time/min	流速 Rate/(mL/min)	流动相 Mobile phase	
		乙腈 Acetonitrile/%	水 Water/%
0	0.3	10	90
3.0	0.3	90	10
3.1	0.3	90	10
5.0	0.3	10	90

1.2.2 质谱检测条件 电喷雾离子源, 负离子电离(ESI<sup>-</sup>); 离子源温度 120 °C; 毛细管电压 3.0 kV; 去溶剂温度 350 °C; 去溶剂气流量: N<sub>2</sub> = 800 L/h; 锥孔电压 30 V; 碰撞能量 38 V; 采用 MRM 多反应离子检测模式, 以保留时间和母离子 *m/z* 458.967、子离子 *m/z* 275.851 和 *m/z* 174.842 进行定性分析, 以母离子 *m/z* 458.967 和响应值最高的子离子 *m/z* 438.77 进行定量分析。

### 1.3 标准溶液的配制

准确称取氟铃脲标准品 10.20 mg (精确到 0.01 mg), 用甲醇稀释并定容到 100 mL, 配制成质量浓度为 100 mg/L 的储备液, 于 4 °C 冰箱中保存。准确移取适量标准储备液, 用甲醇配制成质量浓度分别为 0.005, 0.01, 0.05, 0.1, 0.5, 1 mg/L 的氟铃脲系列标准溶液。

### 1.4 样品前处理方法

1.4.1 棉叶样品 棉叶用粉碎机打碎, 混匀。准确

称取匀质化后的样品 10.00 g 于 50 mL 具塞离心管中,加 20 mL 乙腈,涡旋振荡 3 min,加 4.00 g 无水硫酸镁和 1.00 g 氯化钠,剧烈振荡 1 min,在 3 800 r/min 下离心 5 min。取上清液 1 mL 加入装有 0.05 g PSA 和 0.15 g 无水硫酸镁的微型离心管中,漩涡振荡 1 min,在 3 000 r/min 下离心 5 min,取上清液过 0.22  $\mu\text{m}$  有机滤膜后装入自动进样瓶中,待测。

1.4.2 棉籽与土壤样品 棉籽用粉碎机打碎,混匀,土壤过 2 mm 筛。准确称取匀质化后的样品 5.00 g 于 50 mL 具塞离心管中,依次加入 2 mL 去离子水和 20 mL 乙腈,其余处理步骤同 1.4.1 节。

### 1.5 样品测定

在山东潍坊进行了 15% 氟铃脲水分散粒剂在棉花植株上的消解动态试验。在棉花盛花期施药 1 次,施药剂量为 1 350 g/hm<sup>2</sup> (有效剂量 202.5 g/hm<sup>2</sup>,为推荐最高剂量的 1.5 倍)。施药方式为对水喷雾,分别采集施药后 2 h 及 1,3,7,14,21,28 d 的棉花植株样品。-20  $^{\circ}\text{C}$  保存,采用所建立方法进行测定。

## 2 结果与讨论

### 2.1 检测条件的选择

为了获得最佳的灵敏度和分离效果,首先采用直接进样方式,扫描范围  $m/z$  为 100 ~ 500,选择合适的离子源。实验结果表明,电喷雾离子化、负离子扫描模式可使氟铃脲具有较好的电离效果并获得特征离子峰[M-H]。在此基础上进一步选择质谱参数,选择最适的监测离子、锥孔电压及碰撞能量。通过实验证明,采用乙腈-水体系为流动相,在表 1 梯度洗脱条件下,可得到较高的灵敏度、重现性及峰形。

### 2.2 样品前处理条件的选择

乙酸乙酯、甲醇和乙腈都可以作为氟铃脲的提取溶剂,由于氟铃脲易被土壤吸附,笔者选择了极性大、穿透力强的乙腈作为提取剂。在 QuEChERS 方

法中,样品量和提取剂的体积比多采用 1:1,但实验中发现其回收率偏低。于是用体积相当于 2 倍样品量的提取剂提取,回收率和相对标准偏差均能得到满意的结果。文献报道的氟铃脲在蔬菜中的净化方法多采用弗罗里硅土固相萃取净化<sup>[3-4]</sup>,但由于本实验基质比较复杂,使用弗罗里硅土净化存在干扰,净化效果不能满足需要,而 PSA 可以有效去除脂肪酸<sup>[8]</sup>,因此采用 PSA 为吸附剂。在获得较好回收率的同时,重现性好,并简化了操作程序,提高了工作效率。

### 2.3 方法的线性关系

为提高定量准确性,本实验采用基质匹配标准溶液校正方法对基质效应进行补偿<sup>[9]</sup>。基质效应(matrix effects)是指色谱分离时共洗脱的物质改变了待测成分的离子化效率,从而引起的信号抑制或提高。基质效应影响大时会降低方法的灵敏度,影响方法的准确性,使测定结果产生较大误差<sup>[10]</sup>。取标样溶液 1 mL,用氮气吹干,准确加入按 1.4 节方法处理得出的各基质空白样 1 mL,即得基质匹配标准溶液。将基质匹配标准溶液按 1.2 节中的色谱条件进样测定,结果表明,棉叶、棉籽和土壤各基质匹配标准品中氟铃脲的响应值均明显低于溶剂标准品,属于基质减弱效应。其中棉籽的基质效应最大,响应值抑制率大约为 20% 左右。溶剂标准品和各基质匹配标准品的色谱图见图 1。该方法可以有效去除杂质,并且无拖尾等现象。以氟铃脲的质量浓度为横坐标,以其对应的峰面积为纵坐标作图。经最小二乘法拟合得标准曲线线性方程及相关系数(见表 2)。

### 2.4 方法的准确度、精密度、灵敏度和仪器的稳定性

方法的准确度、精密度和灵敏度分别用添加回收率、相对标准偏差(RSD)和定量限(LOQ)衡量<sup>[11]</sup>。添加回收率以基质标准品为标准得出(见表 3);氟铃脲在各基质中的回收率和相对标准偏差

表 2 氟铃脲的线性方程及相关系数

Table 2 The linear equations and correlation coefficients

标准曲线 Standard curves	线性方程 Linear equation	相关系数 Correlation coefficient, $r$
土壤基质标准曲线 Matrix-matched standard of soil	$y = 112\ 227x + 3\ 683.1$	0.994 2
棉叶基质标准曲线 Matrix-matched standard of cotton leaf	$y = 66\ 014x + 1\ 571.8$	0.996 6
棉籽基质标准曲线 Matrix-matched standard of cottonseed	$y = 169\ 812x + 3\ 446.1$	0.990 2
溶剂标准曲线 Standard curve of hexaflumuron	$y = 101\ 590x + 3\ 345.5$	0.997 6

表3 氟铃脲在棉花和土壤中的添加回收率( $n=5$ )  
Table 3 Recovery of hexaflumuron in cotton and soil( $n=5$ )

样品 Sample	添加水平 Fortified level/ (mg/kg)	回收率 Recovery/%					平均回收率 Average recovery/%	相对标准偏差 RSD/%
		1	2	3	4	5		
棉叶 Cotton leaf	0.005	71.5	73.8	68.4	68.2	73.6	71.1	3.8
	0.05	89.2	83.0	87.1	87.8	87.9	87.0	2.7
	0.5	95.1	96.3	91.3	89.2	89.3	92.2	3.6
棉籽 Cotton seed	0.005	96.5	86.8	84.7	88.0	76.4	86.5	8.4
	0.05	76.2	71.6	78.4	80.2	67.4	74.7	7.0
	0.5	93.6	96.9	92.3	83.4	83.0	89.8	7.0
土壤 Soil	0.005	101.1	90.7	99.4	101.2	98.7	98.2	4.4
	0.05	93.9	100.5	91.8	102.2	103.0	98.3	5.2
	0.5	102.1	111.9	119.1	104.1	112.7	110.0	6.3

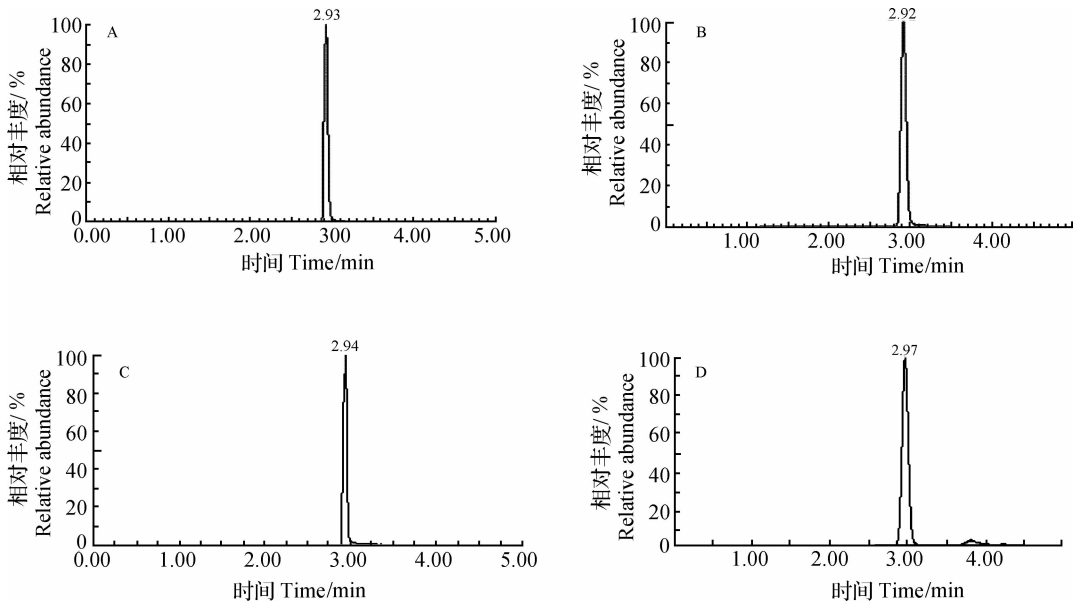


图1 氟铃脲标准品和各基质匹配标准品的超高效液相色谱图

Fig. 1 UPLC chromatogram of hexaflumuron standard and matrix-matched standard

A. 氟铃脲标准品; B. 土壤基质标准品; C. 棉叶基质标准品; D. 棉籽基质标准品。

A. The standard of hexaflumuron; B. Matrix-matched standard of soil; C. Matrix-matched standard of cotton leaf; D. Matrix-matched standard of cotton seed.

均符合农药残留分析的要求;该方法对土壤、棉叶和棉籽3个基质的检出限(LOD)分别为0.04,0.12,0.22  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ,定量限(LOQ)分别为0.14,0.41,0.74  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

用同一供试标样溶液,在相同色谱条件下,每1 h进样1次,连续进样5次,测定其峰面积,多次测定的峰面积相对标准偏差为1.1%,棉籽基质匹配标样溶液重复5次测定的峰面积相对标准偏差为2.8%,表明仪器具有很好的稳定性。

### 2.5 实际样品测定

运用所建立的实验方法测得15%氟铃脲水分

散粒剂施药后2 h及1,3,7,14,21,28 d棉花植株样品中氟铃脲的残留量分别为3.317,3.233,2.758,2.133,1.226,0.847和0.063  $\text{mg}/\text{kg}$ ,其半衰期为5.8 d。实际样品的色谱图见图2。

### 3 结论

研究建立了棉花和土壤中氟铃脲残留量在UPLC-MS/MS上的测定方法。在棉叶、棉籽和土壤中添加0.005~0.5  $\text{mg}/\text{kg}$ 的氟铃脲,其平均回收率在71.1%~110.0%之间,RSD在2.7%~8.4%之间。氟铃脲在3种基质中的LOQ均为0.005  $\text{mg}/\text{kg}$ 。方

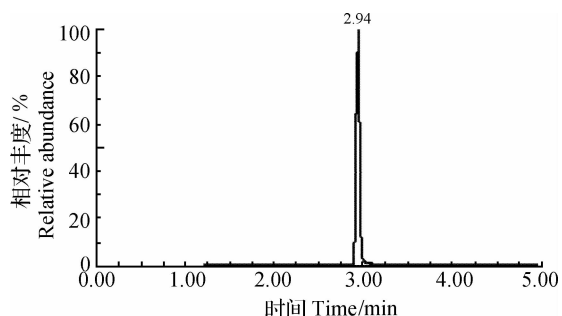


图2 实际样品(施药后1 d)的超高效液相色谱图  
Fig. 2 Chromatogram of real cotton leaf sample  
(1 d after hexaflumuron applied)

法检出限低、杂质干扰小,灵敏度、准确度和精密度均满足农药残留分析要求,适用于棉花和土壤中氟铃脲残留的定性和定量分析,并可用于大量样品的快速处理。

谨以此文敬贺钱传范教授八十华诞!

## 参考文献:

- [1] YANG Ping-hua (杨平华). Application Manual of Common Pesticides(常用农药使用手册)[M]. Chengdu(成都):Sichuan Publishing House of Science & Technology(四川科学技术出版社),2006:77-79,116-117.
- [2] WANG Tong-tao(王同涛),ZHANG Rui-sheng(张瑞生),Liu Zi-you(刘自友),et al. 氟铃脲50%水分散粒剂的研制[J]. *Pestic Sci Admin*(农药科学与管理),2009,30(3):16-18.
- [3] HE Hong-mei(何红梅),WU Li-qin(吴俐勤),ZHANG Hu(章虎),et al. 蔬菜中苯甲酰脲类药物残留的测定方法研究[J].

*Chinese J Anal Chem*(分析化学),2006,10(34):1379-1383.

- [4] HUANG F, GUO Z Y, CHEN L, et al. Dissipation and evaluation of hexaflumuron residues in Chinese cabbage grown in open fields [J]. *Agric Food Chem*, 2010, 58(8): 4839-4843.
- [5] HAN Hong-xin(韩红新),WU Li-yu(吴莉宇),XU Zhi(徐志),et al. 液-质联用(ESI)检测蔬菜中4种农药残留[J]. *Agrochemicals*(农药),2008,47(3):198-200.
- [6] GUO Zheng-yuan(郭正元),YANG Ren-bin(杨仁斌),XU Zhen(徐珍),et al. 5%氟铃脲乳油在棉田生态系统中的安全使用评价[J]. *J Agro-Environ Sci*(农业环境科学学报),2007,26(6):2329-2333.
- [7] ANASTASSIADES M, LEHOTAY S J, STAJNBAHER D. Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and "dispersive solid-phase extraction" for the determination of pesticide residues in produce [J]. *J AOAC Int*, 2003;86:412-431.
- [8] DONG Jing(董静),PAN Yu-xiang(潘玉香),ZHU Li-ping(朱莉萍),et al. 果蔬中54种农药残留的QuEChERS/GC-MS快速分析[J]. *Chinese J Anal Chem*(分析化学),2008,27(1):66-69.
- [9] LI Jing(李晶),DONG Feng-shou(董丰收),LIU Xin-gang(刘新刚),et al. 基质固相分散萃取-气相色谱法同时检测人参中五氯硝基苯及其代谢物残留[J]. *J Agro-Environ Sci*(农业环境科学学报),2009,28(1):216-220.
- [10] ANTIGNAC J P, WASCH K, MONTEAU F, et al. The ion suppression phenomenon in liquid chromatography mass spectrometry and its consequences in the field of residue analysis [J]. *Anal Chim Acta*, 2005, 529: 129-136.
- [11] NY/T 788-2004. 农药残留试验准则[S]. Beijing(北京): China Agriculture Press(中国农业出版社),2004.

(责任编辑:金淑惠)