

QuEChERS-UPLC-MS/MS 测定大米中 氯虫苯甲酰胺和五氟磺草胺的残留

Determination of chlorantraniliprole and penoxsulam residues
in rice by QuEChERS-UPLC-MS/MS

黄子杰¹

黄朋勉¹

罗宽能²

HUANG Zijie¹ HUANG Pengmian¹ LUO Kuanneng²

向忠平²

张洪刚²

XIANG Zhongping² ZHANG Honggang²

(1. 怀化市疾病预防控制中心, 湖南 怀化 418000; 2. 长沙理工大学化学化工学院, 湖南 长沙 410114)

(1. Huaihua Center for Disease Control and Prevention, Huaihua, Hunan 418000, China; 2. School of Chemistry and Chemical Engineering, Changsha University of Science & Technology, Changsha, Hunan 410114, China)

摘要:目的:建立一种新的 QuEChERS-超高效液相色谱—串联质谱(UPLC-MS/MS)检测大米中氯虫苯甲酰胺和五氟磺草胺的残留方法。方法:样品经 0.2% 甲酸—乙腈提取后, *N*-丙基乙二胺(PSA)和石墨化碳黑(GCB)填料净化,以 0.2% 甲酸水—乙腈为流动相梯度洗脱,经 C₁₈ 色谱柱分离,采用 UPLC-MS/MS 测定。结果:氯虫苯甲酰胺和五氟磺草胺的定量限(LOQ)均为 0.004 mg/kg, 方法检出限(LOD)均为 0.001 mg/kg。两种待测农药在 0.002~0.5 mg/L 质量浓度范围内呈良好的线性关系,其相关系数均在 0.993 以上。在 0.05, 0.1, 0.5 mg/kg 添加水平下,两种待测农药的平均回收率为 86%~110%;相对标准偏差(RSD)为 1.5%~6.1%。结论:该方法高效简便、稳定性好、灵敏度高,适用于大米中氯虫苯甲酰胺和五氟磺草胺的检测。

关键词: QuEChERS; 氯虫苯甲酰胺; 五氟磺草胺; 大米; 残留

Abstract: **Objective:** To establish a new QuEChERS-ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS) method for the detection of chlorantraniliprole and penoxsulam residues in rice. **Methods:** After the sample was

extracted with 0.2% formic acid-acetonitrile, purified with *N*-propylethylenediamine (PSA) and graphitized carbon black (GCB) packing, 0.2% formic acid water and acetonitrile were used as mobile phases for gradient elution, and then subjected to C₁₈ chromatography. UPLC-MS/MS was used to column separation and determination. **Results:** The limits of quantification (LOQ) of chlorantraniliprole and penoxsulam were both 0.004 mg/kg, and the method detection limits (LOD) were both 0.001 mg/kg. Chlorantraniliprole and penoxsulam had a good linear relationship in the range of 0.002~0.5 mg/L, and their coefficient was greater than 0.993. At the addition levels of 0.05, 0.1, and 0.5 mg/kg, the average recovery rates of chlorantraniliprole and penoxsulam were 86% to 110% with the relative standard deviations (RSD) of 1.5% to 6.1%. **Conclusion:** This method is efficient and simple, has good stability and high sensitivity, and is suitable for the detection of chlorantraniliprole and penoxsulam in rice.

Keywords: QuEChERS; chlorantraniliprole; penoxsulam; rice; residue

基金项目:怀化市科技计划创新项目(编号:2021R3120);湖南省教育厅科学研究项目(编号:湘教通[2020]264号)

作者简介:黄子杰,男,怀化市疾病预防控制中心助理研究员,硕士。

通信作者:黄朋勉(1972—),男,长沙理工大学副教授,博士。

E-mail: huangpengmian@126.com

收稿日期:2023-08-25 **改回日期:**2023-11-20

氯虫苯甲酰胺(chlorantraniliprole)是由美国开发的具有新型邻酰胺基苯甲酰胺类化学结构的广谱杀虫剂,对危害大豆、水稻、棉花、玉米、果蔬等多种作物的鳞翅目害虫表现出优异的防治效果,是使用最广的稻田用杀虫剂之一^[1-5]。五氟磺草胺(penoxsulam)对稻田常见的多种杂草如稗草、一年生莎草以及多种阔叶草等均有良好的防效^[6-8],对鱼类、鸟类、陆生和水生无脊椎动物低毒,对水生植物低毒至中等毒性,但其在稻田环境的应用频

次较高,存在一定的生态和饮食风险^[9-10]。

目前,常用于检测氯虫苯甲酰胺和五氟磺草胺残留的方法有高效液相色谱法 (HPLC)^[11-13]、液相色谱—质谱法 (LC-MS)^[14-19]等,这些方法的净化处理主要采用固相萃取法和 QuEChERS 法,固相萃取法存在操作复杂、检测成本高、重复性差等缺点^[20];农残检测的主要净化方法为 QuEChERS 法,一些复杂的基质往往需要对填料的种类与用量进行考察才能得出满意的试验数据。目前,有关氯虫苯甲酰胺和五氟磺草胺残留的检测方法较多,但同时测定大米中氯虫苯甲酰胺和五氟磺草胺残留的方法尚未见报道。研究拟建立一种新的 QuEChERS 前处理技术并运用液质联用仪检测大米中氯虫苯甲酰胺和五氟磺草胺残留的方法,为检测大米中氯虫苯甲酰胺和五氟磺草胺的残留提供依据。

1 材料与方法

1.1 仪器与材料

超高效液相色谱—质谱联用仪:Acquity TQD 型,沃特世科技(上海)有限公司;

超声清洗器:KQ-250DE 型,昆山舒美超声仪器有限公司;

纯水机:Ultra Genetic 型,英国埃尔格公司;

高速离心机:MEGAFUGE8 型,赛默飞世尔科技有限公司;

粉碎机:6202 型,北京锐捷玉诚机械设备有限公司;

氯虫苯甲酰胺、五氟磺草胺标准品:纯度 99.5%,国家标准物质中心;

乙腈、氯化钠、无水硫酸镁:分析纯,中国医药集团有限公司;

N-丙基乙二胺(PSA)、石墨化碳黑(GCB)、弗罗里硅土:中国医药集团有限公司;

C₁₈ 色谱柱: Hypersil GOLD 100 mm×2.1 mm, 1.9 μm,赛默飞世尔科技有限公司。

1.2 试验方法

1.2.1 样品前处理 称取粉碎后的大米样品 10.0 g 于离心管中,加入 20 mL 0.2%甲酸—乙腈,300 r/min 振荡提取 30 min,加入 5 g 氯化钠,剧烈振荡 1 min,6 000 r/min 离心 5 min,待净化;取 2 mL 待净化的样品上清液置于装有 30 mg GCB、150 mg PSA 和 300 mg 无水硫酸镁的离心管中,旋涡混匀 1 min,6 000 r/min 离心 5 min,取上清液后过 0.22 μm 有机滤膜,供液质检测分析。

1.2.2 分析条件

(1) 色谱条件: Hypersil GOLD 色谱柱(100 mm×2.1 mm,1.9 μm),柱温 40 ℃,进样体积 2.0 μL,流速 0.20 mL/min,梯度洗脱程序见表 1。

(2) 质谱条件:电喷雾正离子源,MRM 选择反应监

测模式;电喷雾电压 4.0 kV;离子传输管温度 300 ℃,辅助气流速 1.5 L/min,各待测物质的参数见表 2。

表 1 梯度洗脱比例

Table 1 Gradient elution ratio		
时间/min	流动相 A/%	流动相 B/%
0.00	60	40
2.00	60	40
2.01	10	90
4.00	10	90
4.01	60	40
6.00	60	40

表 2 氯虫苯甲酰胺和五氟磺草胺质谱分析条件

Table 2 Conditions for mass spectrometry analysis of chlorantraniliprole and penoxsulam

化合物	母离子 (<i>m/z</i>)	子离子 (<i>m/z</i>)	电喷雾电 压/kV	碰撞能/ eV
氯虫苯甲酰胺	483	453/286	4.0	23/17
五氟磺草胺	484	195/164	4.0	26/32

1.2.3 标准溶液配制及曲线绘制 用乙腈分别将氯虫苯甲酰胺和五氟磺草胺溶解,并配制成 1 000 mg/L 的储备液,再逐级稀释成 0.002,0.01,0.05,0.2,0.5 mg/L 的系列质量浓度的标准溶液,于-18 ℃保存,分别以质量浓度和峰面积为横、纵坐标绘制标准曲线,外标法定量。

1.2.4 添加回收试验 向空白大米样品中分别添加 0.05,0.1,0.5 mg/kg 的氯虫苯甲酰胺和五氟磺草胺标准工作溶液,每个水平重复 6 次,计算回收率和相对标准偏差。

2 结果与讨论

2.1 质谱条件的选择

以流动注射方式,分别将两种待测农药标准溶液注入超高效液相色谱—串联质谱中,在 Full scan 模式下,正离子源的响应相对较高,因此选择正离子模式检测,并对碰撞能、电喷雾电压等参数进行优化,优化后的参数见表 2。

2.2 流动相的选择

在流动相中加酸可以抑制硅羟基或者样品分子离子化,从而减少样品与残存游离硅羟基的结合,进而优化峰形。而酸浓度同时也会影响正离子模式下样品的离子化强度从而影响目标物的响应强度。分别采用 0.1%甲酸水—乙腈溶液、0.2%甲酸水—乙腈溶液作为流动相进行对比,色谱图见图 1。由图 1 可知,0.2%甲酸水—乙腈不仅对目标物响应强度有提高,还有助于峰型的改善。

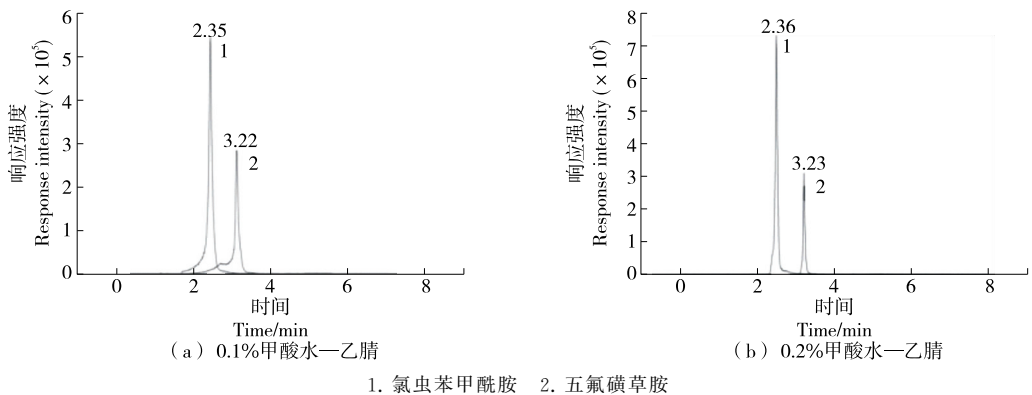


图1 目标物色谱图

Figure 1 Target chromatogram

2.3 提取溶剂的选择

在ESI⁺模式下,甲酸、醋酸均能提高目标化合物的离子化效率^[21],而酸根负离子会与样品正离子结合从而降低离子化效率,故研究对比了乙腈、0.2%乙酸-乙腈和0.2%甲酸-乙腈对氯虫苯甲酰胺和五氟磺草胺的提取效果。由图2可知,0.2%甲酸-乙腈溶剂对两种目标物的平均回收率均大于90%。

2.4 样品净化

PSA多用于去除极性糖类、脂肪酸、亲脂色素等极性基质,而C₁₈适合吸附从非极性到中等极性的脂类、糖类、等亲脂型化合物,弗罗里硅土柱与硅胶相似,可以从非极性溶液中萃取极性化合物。在0.1 mg/kg添加水平下,分

别考察150 mg C₁₈/30 mg GCB、150 mg PSA/30 mg GCB和150 mg 弗罗里硅土/30 mg GCB组合对样品净化效果的影响,结果见图3。由图3可知,以PSA/石墨化碳黑组合为净化剂时,回收率最高。

2.5 方法的线性关系及检出限

由表3可知,两种目标物在0.002~0.5 mg/L质量浓度范围内呈良好线性关系, $R^2 > 0.999$ 。两种目标物的LOD均为0.001 mg/kg,LOQ均为0.004 mg/kg。

2.6 方法的精密度和准确度

由表4可知,在0.05,0.1,0.5 mg/kg添加水平下,两种目标物的平均回收率为86%~110%,RSD为1.5%~

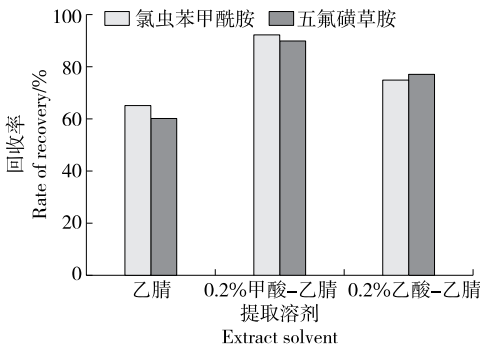


图2 提取溶剂对氯虫苯甲酰胺和五氟磺草胺提取效果的影响

Figure 2 The effect of extract solvent on the extraction effect of chlorantraniliprole and penoxsulam (0.1 mg/L)

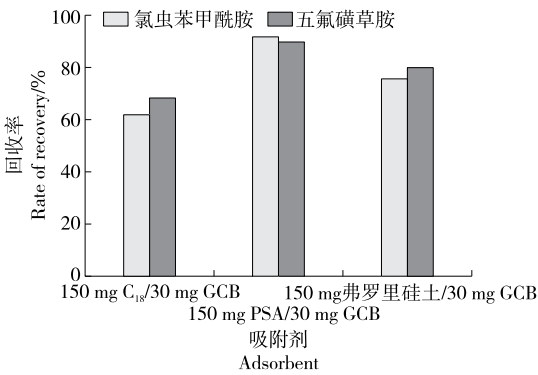


图3 吸附剂对氯虫苯甲酰胺和五氟磺草胺净化效果的影响

Figure 3 Effects of different adsorbents on the purification efficiency of chlorantraniliprole and penoxsulam (0.1 mg/L)

表3 氯虫苯甲酰胺和五氟磺草胺的线性关系、基质效应及检出限

Table 3 Linear relationship, matrix effect and detection limit of chlorantraniliprole and penoxsulam

化合物	线性范围/(mg · L ⁻¹)	线性方程	R ²	检出限/(mg · kg ⁻¹)	定量限/(mg · kg ⁻¹)
氯虫苯甲酰胺	0.002~0.5	Y=9 012X+14 360	0.999 3	0.001	0.004
五氟磺草胺	0.002~0.5	Y=24 090X+22 810	0.999 6	0.001	0.004

表 4 氯虫苯甲酰胺和五氟磺草胺的添加回收率及相对标准偏差

Table 4 Addition recoveries and relative standard deviations of chlorantraniliprole and penoxsulam %						
化合物	0.05 mg/kg		0.1 mg/kg		0.5 mg/kg	
	平均回收率	相对标准偏差	平均回收率	相对标准偏差	平均回收率	相对标准偏差
氯虫苯甲酰胺	92	1.5	88	2.6	110	5.3
五氟磺草胺	87	3.2	86	2.8	105	6.1

6.1% ($n=6$),表明该方法具有良好的准确度和精密度。大米样品中,氯虫苯甲酰胺和五氟磺草胺的色谱图如图 4 所示。

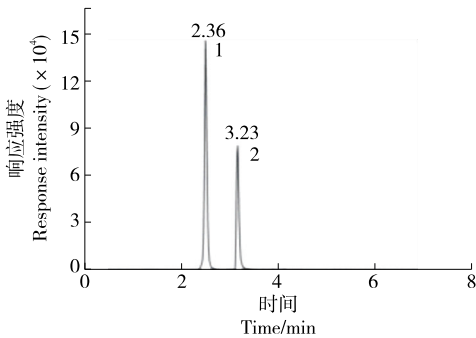


图 4 大米样品添加 2 种农药的色谱图

Figure 4 Chromatograms of rice samples with two pesticides added (0.1 mg/kg)

2.7 实际样品的测定

采用试验方法对当地市场抽取的 20 批次大米(大米 A 7 批次、大米 B 7 批次、大米 C 6 批次)进行测定,结果见表 5。由表 5 可知,部分大米检出五氟磺草胺和氯虫苯甲酰胺残留。

表 5 大米中氯虫苯甲酰胺和五氟磺草胺的含量
Table 5 Contents of chlorantraniliprole and penoxsulam in rice mg/kg

化合物	大米 A	大米 B	大米 C
氯虫苯甲酰胺	<0.004	<0.004	0.010
五氟磺草胺	<0.004	0.011	0.008

3 结论

研究建立了一种可同时检测大米中氯虫苯甲酰胺和五氟磺草胺残留量的超高效液相色谱—串联质谱(UPLC-MS/MS)检测方法。结果表明,该方法优化了样品前处理方法及液相色谱检测条件,使试验过程操作简便、稳定性好、灵敏度高、回收率高。研究未能对氯虫苯甲酰胺和五氟磺草胺的消解动态进行试验分析,随着氯虫苯甲酰胺和五氟磺草胺长期、大量、重复的使用,可能

会有害虫对其产生了抗性,需进行深入研究。

参考文献

[1] 陆昕豪,高赞,陈晓莉,等. 氯虫苯甲酰胺的合成研究[J]. 山东化工, 2019, 48(17): 63-64.
LU X H, GAO Z, CHEN X L, et al. Research on the synthesis of chlorantraniliprole[J]. Shandong Chemical Industry, 2019, 48(17): 63-64.

[2] 于居龙,束兆林,张国,等. 氯虫苯甲酰胺拌种对稻纵卷叶螟的防治效果及安全性评价[J]. 农药学报, 2019, 21(3): 300-308.
YU J L, SHU Z L, ZHANG G, et al. Control effect and safety evaluation of chlorantraniliprole seed dressing on rice leaf roller[J]. Journal of Pesticides, 2019, 21(3): 300-308.

[3] SAGLAM O, ATHANASSIOU C G, VASSILAKOS T N. Comparison of spinetoram, imidacloprid, thiamethoxam and chlorantraniliprole against life stages of Tribolium confusum Jacquelin du Val (Coleoptera: Tenebrionidae) on concrete[J]. Crop Protect, 2013, 53: 85-95.

[4] FENOLL J, GARRIDO I, CAVA J, et al. Photometabolic pathways of chlorantraniliprole in aqueous slurries containing binary and ternary oxides of Zn and Ti[J]. Chem Eng J, 2015, 264: 720-727.

[5] 马婧玮,马欢,安莉,等. QuEChERS-高效液相色谱—串联质谱法测定主要谷物和油料作物中氯虫苯甲酰胺的残留[J]. 农药学报, 2018, 20(1): 129-134.
MA J W, MA H, AN L, et al. Determination of chlorantraniliprole residues in major cereals and oil crops by QuEChERS-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. Journal of Pesticides, 2018, 20(1): 129-134.

[6] MONTEZANO D G, SPECHT A, SOSA-GOMEZ D R, et al. Host plants of spodoptera frugiperda (Lepidoptera: Noctuidae) in the Americas[J]. African Entomology, 2018, 26(2): 286-301.

[7] FAO. Fall armyworm keeps spreading and becomes more destructive[EB/OL]. (2018-06-28) [2003-05-07]. <http://www.fao.org/news/story/en/item/1142085/icode/>.

[8] 姜宜飞,李友顺,王胜翔. 五氟磺草胺 22% 悬浮剂高效液相色谱分析方法研究[J]. 农药科学与管理, 2013, 34(7): 40-42.
JIANG Y F, LI Y S, WANG S X. Research on high performance liquid chromatography analysis method of penoxsulam 22% suspension[J]. Pesticide Science and Management, 2013, 34(7): 40-42.

[9] 梁宇,司露露,汪文龙,等. 高效液相色谱—串联质谱法和高效

- 液相色谱法测定蜜蜂中氯虫苯甲酰胺残留量[J]. 食品安全质量检测学报, 2022, 13(2): 492-497.
- LIANG Y, SI L L, WANG W L, et al. Determination of chlorantraniliprole residues in bees by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry and high performance liquid chromatography [J]. Journal of Food Safety and Quality Testing, 2022, 13(2): 492-497.
- [10] 李文卓, 钱圆, MATSUMOTO H, 等. 五氟磺草胺在稻田中的降解动态及残留特性[J]. 农药学报, 2017, 19(1): 61-67.
- LI W Z, QIAN Y, MATSUMOTO H, et al. Decomposition dynamics and residual characteristics of penoxsulam in rice fields [J]. Journal of Pesticides, 2017, 19(1): 61-67.
- [11] 贺敏, 朱晓丹, 贾春红, 等. 玉米中氯虫苯甲酰胺残留的超高效液相色谱分析方法[J]. 农药学报, 2013, 15(5): 597-600.
- HE M, ZHU X D, JIA C H, et al. Ultra-high performance liquid chromatography method for analysis of chlorantraniliprole residues in corn[J]. Journal of Pesticides, 2013, 15(5): 597-600.
- [12] SINGH B, KAR A, MANDAL K, et al. Development and validation of QuEChERS method for estimation of chlorantraniliprole residue in vegetables[J]. J Food Sci, 2012, 77(12): T208-T215.
- [13] 韩娟, 杨向黎, 周道煌, 等. 五氟磺草胺的高效液相分析[J]. 农药, 2013, 52(9): 664-665.
- HAN J, YANG X L, ZHOU D H, et al. High performance liquid phase analysis of penoxsulam[J]. Pesticides, 2013, 52(9): 664-665.
- [14] DHARAM B Y, NARENDER S, ANIL D, et al. Penoxsulam influence on weed complex and productivity of transplanted rice and its residual effects in rice-wheat cropping system [J]. Indian Journal of Weed Science, 2019, 51(1): 10-14.
- [15] 司文帅, 张颖, 张其才, 等. 植物源性食品中氟吡菌胺、烯肟菌胺、氯虫苯甲酰胺残留的 LC-MS/MS 检测方法研究[J]. 上海农业学报, 2019, 35(1): 76-79.
- SI W S, ZHANG Y, ZHANG Q C, et al. Research on LC-MS/MS detection methods of fluopicostrobin, fenclufen and chlorantraniliprole residues in plant-derived food [J]. Shanghai Agricultural Journal, 2019, 35(1): 76-79.
- [16] TELÓ G M, SENSEMAN S A, MARCHESAN E, et al. Residues of thiamethoxam and chlorantraniliprole in rice grain[J]. J Agric Food Chem, 2015, 63(8): 2 119-2 126.
- [17] 林毅楠, 黄美玲, 王海鸣, 等. 液相色谱串联质谱法测定茶叶中氯虫苯甲酰胺残留量[J]. 食品安全质量检测学报, 2019, 10(20): 7 024-7 030.
- LIN Y N, HUANG M L, WANG H M, et al. Determination of chlorantraniliprole residues in tea by liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. Journal of Food Safety and Quality Inspection, 2019, 10(20): 7 024-7 030.
- [18] 李桂红, 李二虎, 张武, 等. 超高效液相色谱串联质谱测定果蔬中氯虫苯甲酰胺残留[J]. 世界农药, 2018, 40(3): 58-61, 64.
- LI G H, LI E H, ZHANG W, et al. Determination of chlorantraniliprole residues in fruits and vegetables by ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. World Pesticides, 2018, 40(3): 58-61, 64.
- [19] 张聪, 游菁菁, 陈亮, 等. 多壁碳纳米管 QuEChERS-液相色谱—串联质谱法快速检测茶叶中氯虫苯甲酰胺残留量[J]. 食品安全质量检测学报, 2021, 12(20): 8 062-8 067.
- ZHANG C, YOU J J, CHEN L, et al. Rapid detection of chlorantraniliprole residues in tea using multi-walled carbon nanotube QuEChERS-liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. Journal of Food Safety and Quality Inspection, 2021, 12(20): 8 062-8 067.
- [20] 文静, 莫楠, 张立佳, 等. 超高效液相色谱—串联质谱法测定牛乳中氯虫苯甲酰胺、氯苯虫酰胺和 2 甲 4 氯的残留[J]. 食品工业科技, 2023, 44(5): 285-291.
- WEN J, MO N, ZHANG L J, et al. Determination of chlorantraniliprole, chlorobenzamide and 2-methyl-4-chloride residues in milk by ultrahigh-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Food Industry Science and Technology, 2023, 44(5): 285-291.
- [21] 王昕璐, 贾琪, 许颜阳, 等. QuEChERS-超高效液相色谱—串联质谱法同时测定草莓中甲基硫菌灵、多菌灵和乙嘧酚残留[J]. 农药学报, 2017, 19(5): 603-608.
- WANG X L, JIA Q, XU Y Y, et al. Simultaneous determination of thiophanate-methyl, carbendazim and pyrimethol residues in strawberries by QuEChERS-ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Journal of Pesticides, 2017, 19(5): 603-608.

(上接第 62 页)

- [20] HUANG X, QIU N, YUAN D, et al. Preparation of a mixed stir bar sorptive extraction based on monolithic material for the extraction of quinolones from wastewater [J]. J Chromatogr A, 2010, 1 217(16): 2 667-2 673.
- [21] 黄季维, 樊文明, 刘桂丹, 等. QuEChERS 净化液相色谱质谱/质谱法用于测定禽畜肉中 18 种喹诺酮类抗生素[J]. 预防医学情报杂志, 2021, 37(11): 1 596-1 603.
- HUANG J W, FAN W M, LIU G D, et al. QuEChERS purified liquid chromatography-mass spectrometry/mass spectrometry was used to determine 18 quinolone antibiotics in poultry and livestock meat[J]. J Prev Med Inf, 2021, 37(11): 1 596-1 603.
- [22] 马俊美, 范素芳, 孙磊, 等. 超高效液相色谱—四极杆/静电场轨道阱高分辨质谱法测定牛奶中 19 种喹诺酮类抗生素[J]. 中国食品学报, 2021, 21(1): 309-317.
- MA J M, FAN S F, SUN L, et al. Determination of 19 quinolones in milk by ultra-high performance liquid chromatography-quadrupole/electrostatic field orbital trap high resolution mass spectrometry[J]. Chin Inst Food Sci Technol, 2021, 21(1): 309-317.