

液质联用测定番茄中甲基硫菌灵残留量

徐炜枫, 韩 凯, 孙钰洁, 潘康标

(江苏省农产品质量检验检测中心, 江苏 南京 210036)

摘要: 为了评价 70% 甲基硫菌灵可湿性粉剂在番茄中的使用安全性, 开展甲基硫菌灵在番茄中的残留量研究。本文建立了分散固相萃取前处理, 高效液相色谱/质谱联用法测定甲基硫菌灵在番茄中残留量的方法。样品经乙腈提取, 乙二胺-N-丙基甲硅烷 (PSA) 和无水硫酸镁混合振荡离心除去杂质和水分, 上清液用配有电喷雾 (ESI) 源的高效液相色谱/质谱联用仪测定。田间试验结果建议在番茄上喷施 70% 甲基硫菌灵可湿性粉剂 $562.5 \text{ g ai} \cdot \text{hm}^{-2}$, 3 次施药, 推荐安全间隔期为 3 d; 市场抽检样品检测表明番茄中甲基硫菌灵的残留量均小于 $0.05 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 低于最大残留限量 $3 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。

关键词: 番茄; 甲基硫菌灵; 残留; 检测

中图分类号: X830.2

文献标志码: A

文章编号: 2095-6819(2014)03-0296-03

doi: 10.13254/j.jare.2014.0015

Determination of Thiophanate-methyl in Tomato by High Performance Liquid Chromatography-triple Quadrupole Tandem Mass Spectrometry

XU Wei-feng, HAN Kai, SUN Yu-jie, PAN Kang-biao

(Jiangsu Agro-product Quality Test Center, Nanjing 210036, China)

Abstract: To evaluate the safety of use of 70% thiophanate-methyl wettable powders in tomato, a supervised trial experiment was conducted to study the residues in tomato. A method of determining thiophanate-methyl by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) was established. Acetonitrile was used as an extraction solvent, and PSA and anhydrous magnesium were used for sample purifying. Samples were determined and quantified by LC-MS/MS in the multiple reaction monitoring mode (MRM). The field trial recommended spraying 70% thiophanate-methyl WP on tomato with $562.5 \text{ g ai} \cdot \text{hm}^{-2}$ in three times, which the safe interval was not less than three days from the last time to harvest. The results showed that the thiophanate methyl residue in tomato was lower than $0.05 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, both from field trials and market sampling samples.

Keywords: tomato; thiophanate-methyl; residues; determination

甲基硫菌灵取代苯类杀菌剂, 属苯并咪唑类, 是一种广谱性内吸杀菌剂, 能防治多种作物病害, 具有内吸、预防和治疗作用, 在农业生产中使用广泛。为了给残留风险评估提供残留监测数据, 对甲基硫菌灵在番茄中使用作出安全性评价, 需对番茄中的甲基硫菌灵残留量进行测定。文献报道的分析方法有液相色谱法^[1-2]、气相色谱法^[3]等, 这些方法的样品前处理步骤繁琐, 有机溶剂用量多, 而且分析时间较长, 或检测灵敏度低。本实验提出经乙腈提取, PSA 和无水 MgSO_4 混合振荡离心除去杂质和水分, 上清液进行高效液相色谱/质谱联用仪测定^[3-4], 该方法稳定, 回收率高。本文

利用此方法, 对甲基硫菌灵在番茄中的田间试验最终残留量和市售番茄的残留量进行测定。

1 材料与方法

1.1 田间试验

1.1.1 田间试验设计

试验分为 4 个处理, 1 个空白对照, 每小区 20 m^2 。施药方法为兑水手动喷雾每 667 m^2 用水 50~60 L。

1.1.2 最终残留量试验

每个小区 20 m^2 , 重复 3 次, 在番茄生长期分别用 70% 甲基硫菌灵可湿性粉剂以 $562.5 \text{ g ai} \cdot \text{hm}^{-2}$ 和 $900 \text{ g ai} \cdot \text{hm}^{-2}$ 的剂量喷雾施药 3 次和 4 次, 2 次施药间隔为 7 d^[5]。距最后 1 次施药间隔 3、5、7 d 采集番茄样品, 测定番茄中甲基硫菌灵的最终残留量。对照区不施药, 采对照样。

收稿日期: 2014-01-16

基金项目: 2013 年农业部农药安全性监测与评价项目

作者简介: 徐炜枫 (1981—), 女, 江苏海门人, 农艺师, 从事农产品质量安全检验检测工作。E-mail: maple_1014@163.com

1.2 检测方法

1.2.1 试剂和设备

液相色谱/串联质谱仪:WATERS XEVO-TQS,配有电喷雾离子源(ESI);离心机:7 000 r·min⁻¹;高速匀浆机:24 000 r·min⁻¹;氮吹仪:TTL-DC II 型。

甲酸、乙腈、PSA、石墨化碳(GCB):色谱纯;无水氯化钠、乙酸铵、无水硫酸镁:分析纯;甲基硫菌灵标准溶液、多菌灵标准溶液:1 000 mg·L⁻¹,购自农业部环境质量监督检验测试中心(天津)。

1.2.2 分析步骤

1.2.2.1 提取

称取粉碎后的番茄样品 10.0 g 置于 50 mL 具塞离心管中,加入 10 mL 乙腈,高速匀浆后加入 4~6 g 氯化钠,剧烈振荡,于 7 000 r·min⁻¹ 的离心机离心 3 min,移取上清液,待净化。

1.2.2.2 净化

将待净化的溶液倒入 2 mL 离心管中,其内放入 50 mg PSA、200 mg 无水 MgSO₄,涡旋混匀后 7 000 r·min⁻¹ 离心,上清液过 0.22 μm 的滤膜,滤液供 UPLC/MSMS 测定。

1.2.2.3 色谱条件

色谱柱:BEH-C18 2.1 mm×50 mm,1.7 μm;流动相:A:0.1%甲酸+5 mmol 乙酸铵水溶液;B:乙腈;流速:0.3 mL·min⁻¹;柱温:40 ℃;进样量:1 μL。梯度洗脱条件如下:初始比例为 95%A,保持 0.5 min,2 min 后为 95%B,4 min 后为 95%A,保持 1 min。

1.2.2.4 质谱条件

离子源:电喷雾离子源 ESI;扫描方式:正离子源;毛细管电压:3.0 kV;离子源温度:150 ℃;脱溶剂温度:500 ℃;脱溶剂气流量:1 000 L·h⁻¹;碰撞气流

速:0.15 mL·min⁻¹;检测方式:多重反应监测(MRM)。在分析过程中,采用多反应监测模式,以保留时间和离子对信息比较进行定性分析,以母离子和响应值最高的子离子进行定量分析。甲基硫菌灵和多菌灵的保留时间、监测离子及碰撞电压见表 1。

2 结果与分析

2.1 线性关系和最小检出量

样品中甲基硫菌灵残留量以甲基硫菌灵和多菌灵总量计。

用流动相(乙腈+水=95+5)配制甲基硫菌灵和多菌灵混合标准溶液,每个样品平行测定 3 次。甲基硫菌灵和多菌灵的质量浓度为 0.008~0.2 mg·L⁻¹,以进样浓度为横坐标,对应色谱峰面积为纵坐标绘制标准曲线。甲基硫菌灵线性回归方程 $y = 30\,000\,000x + 95\,899$,相关系数 $R^2=0.999\,5$,其标准溶液的浓度与峰面积呈现正相关关系,最小检出量为 0.001 ng。多菌灵线性回归方程 $y = 10\,000\,000x - 27\,533$,相关系数 $R^2=0.993\,2$,其标准溶液的浓度与峰面积呈现正相关关系,最小检出量为 0.001 ng。

2.2 方法添加回收率和精密度

在未施过甲基硫菌灵和多菌灵的对照番茄中添加甲基硫菌灵、多菌灵的标准溶液,以 0.05~10.0 mg·kg⁻¹ 为添加浓度,进行方法的添加回收试验,然后按上述方法进行提取、净化与测定。由于 3 mg·kg⁻¹ 与 10 mg·kg⁻¹ 的添加量在线性范围之外,处理后的样品用乙腈稀释后进样。结果见表 2。方法的最低检出浓度为 0.05 mg·kg⁻¹。甲基硫菌灵在番茄中的回收率为 80.2%~98.5%,变异系数为 5.2%~7.9%。多菌灵在番茄中的回收率为 80.2%~99.5%,变异系数为

表 1 甲基硫菌灵和多菌灵的 MRM 条件

Table 1 Instrument conditions of thiophanate-methyl and cabendazim in MRM mode

化合物	保留时间/min	定量离子对	锥孔电压/V	碰撞能量/eV	定性离子对	锥孔电压/V	碰撞能量/eV
甲基硫菌灵	1.93	343.0/93.0	19	46	343.0/151.0	19	22
多菌灵	1.48	192.1/132.1	24	28	192.1/160.1	24	18

表 2 甲基硫菌灵和多菌灵在番茄中的添加回收率与精密度($n=5$)

Table 2 Recoveries and precisions for thiophanate-methyl and cabendazim added in tamoto ($n=5$)

添加水平/mg·kg ⁻¹	甲基硫菌灵		多菌灵	
	回收率/%	变异系数/%	回收率/%	变异系数/%
0.05	85.2、85.3、90.5、91.2、96.5	5.2	81.3、83.2、91.5、92.2、99.5	8.4
3	80.2、92.5、95.6、96.4、98.5	7.9	80.3、91.5、92.2、94.6、95.4	2.1
10	81.2、85.6、94.4、95.1、96.2	7.4	80.2、86.3、86.4、95.1、96.2	6.1

2.1%~8.4%。

2.3 甲基硫菌灵在番茄中的田间试验最终残留测定结果

按照试验设计,以 $562.5 \text{ g ai} \cdot \text{hm}^{-2}$ 和 $900 \text{ g ai} \cdot \text{hm}^{-2}$ 的剂量在番茄中进行喷雾处理,施药次数分别为 3 次和 4 次。对照区不施药。测定结果见表 3。结果表明:距最后 1 次施药 3、5 d 和 7 d,番茄中的甲基硫菌灵的残留量分别为 $<0.05 \sim 0.14$ 、 $<0.05 \sim 0.14 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 和 $<0.05 \sim 0.11 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。

表 3 甲基硫菌灵在番茄中的田间试验结果统计表

Table 3 Results of field trials for thiophanate-methyl in tomato

时间地点	施药剂量/ $\text{g ai} \cdot \text{hm}^{-2}$	施药次数	采收间 隔期/d	残留量/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$
2013 年 江苏东海	562.5	3	3	$<0.050, <0.050, <0.050$
			5	$<0.050, <0.050, <0.050$
			7	$<0.050, <0.050, 0.056$
		4	3	$<0.050, <0.050, 0.050$
			5	$<0.050, <0.050, <0.050$
			7	$<0.050, <0.050, <0.050$
	900	3	3	$<0.050, <0.050, 0.086$
			5	$<0.050, <0.050, 0.050$
			7	$<0.050, 0.061, 0.092$
		4	3	$0.12, 0.12, 0.14$
			5	$0.071, 0.085, 0.14$
			7	$0.052, 0.11, 0.11$
2013 年 江苏句容	562.5	3	3	$<0.050, <0.050, <0.050$
			5	$<0.050, <0.050, <0.050$
			7	$<0.050, <0.050, 0.056$
		4	3	$<0.050, <0.050, 0.050$
			5	$<0.050, <0.050, <0.050$
			7	$<0.050, <0.050, <0.050$
	900	3	3	$<0.050, <0.050, 0.051$
			5	$<0.050, <0.050, 0.042$
			7	$<0.050, <0.050, 0.020$
		4	3	$0.078, 0.085, 0.089$
			5	$0.067, 0.065, 0.075$
			7	$0.052, 0.058, 0.060$

2.4 市场监测样品中甲基硫菌灵的测定结果

对江苏镇江、苏州、淮安、南京、南通和盐城市售的番茄进行随机采样,共计 60 批次。使用本文方法进行检测,结果番茄中甲基硫菌灵(甲基硫菌灵和多菌灵总量)的残留量均低于方法最低检出浓度。

3 结论

(1)本文建立了采用乙腈提取、PSA 分散基质净化

测定番茄中甲基硫菌灵及其代谢物多菌灵的检测方法。该方法具有提取时间短、溶剂用量少等特点,其添加回收率和精确度均满足农药残留检测的要求,适用于番茄中甲基硫菌灵和多菌灵的残留检测。

(2)田间试验的结果表明,70%甲基硫菌灵可湿性粉剂以 $562.5 \text{ g ai} \cdot \text{hm}^{-2}$,施药 3 次,采收间隔期为 3 d 时,番茄中的甲基硫菌灵(甲基硫菌灵和多菌灵总量)残留量均低于 $0.05 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。GB 2763 中规定了甲基硫菌灵和多菌灵在番茄中的最大残留限量(MRL)均为 $3 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。因此建议在番茄上喷施 70%甲基硫菌灵可湿性粉剂以 $562.5 \text{ g ai} \cdot \text{hm}^{-2}$,3 次施药,最后 1 次距采收间隔期不小于 3 d 是安全的。

(3)江苏省内市售的番茄中随机采样,共计 60 批次,检出率和超标率均为 0。说明甲基硫菌灵目前在番茄中的使用是安全的。

参考文献:

- [1] 刘文杰,万英,庞新安,等. 高效液相色谱法同时测定土壤中多菌灵、吡虫啉和甲基托布津的残留[J]. 分析测试学报, 2007(1):138-140.
LIU Wen-jie, WAN Ying, PANG Xin-an, et al. Determination of carbendazim, imidacloprid and thiophanate methyl in soil by high performance liquid chromatography[J]. *Journal of Instrumental Analysis*, 2007(1):138-140. (in Chinese)
- [2] 杨永珍,刘光学,何艺兵,等. 农药残留实用检测方法手册(第三卷)[M]. 北京:中国农业出版社, 2005:236-239.
YANG Yong-zhen, LIU Guang-xue, HE Yi-bing, et al. Analytical method manual of pesticide residue (Vol.3)[M]. Beijing: Agricultural Press of China, 2005:236-239. (in Chinese)
- [3] 张志勇,龚勇,单伟力,等. QuEChERS-高效液相色谱-串联质谱法测定黄瓜和土壤中甲基硫菌灵和多菌灵[J]. 色谱, 2012(1):96-99.
ZHANG Zhi-yong, GONG Yong, SHAN Wei-li, et al. Determination of thiophanate-methyl and carbendazim in cucumber and soil by QuEChERS-high performance liquid chromatography-triple quadrupole tandem mass spectrometry[J]. *Chinese Journal of Chromatography*, 2012(1):96-99. (in Chinese)
- [4] 付新梅,张丽静,武荣兰,等. 液相色谱-质谱法同时测定甜瓜样品中的噻菌灵、甲基托布津、扑海因[J]. 分析化学, 2004(8):69-71.
FU Xin-mei, ZHANG Li-jing, WU Rong-lan, et al. Simultaneous determination of thiabendazole, thiophanate methyl and iprodione in muskmelons by liquid chromatography-mass spectrometry[J]. *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, 2004(8):69-71. (in Chinese)
- [5] 王运浩,季颖,龚勇,等. 农药登记残留田间试验标准操作规程[M]. 北京:中国标准出版社, 2007:98-102.
WANG Yun-hao, JI Ying, GONG Yong, et al. Standard operating procedures on pesticide registration residue field trials[M]. Beijing: Standard Press of China, 2007:98-102. (in Chinese)