

高效液相色谱-串联质谱法测定水稻植株和田水中 盐酸吗啉胍消解动态

赵琳, 张晓波, 任红波, 金海涛, 马文琼, 陈国峰, 刘峰

(黑龙江省农业科学院农产品质量安全研究所, 黑龙江 哈尔滨 150086)

摘要:2011—2012年在黑龙江肇东、河南祝楼、江苏句容三地通过田间试验,研究了盐酸吗啉胍在水稻植株和田水中的消解动态。水稻植株和田水采用UPLC-MS/MS正离子扫描测定残留的盐酸吗啉胍。结果表明,水稻植株和田水的3种添加浓度(0.005、0.05、0.5 mg·kg⁻¹)平均回收率分别为92.50%~109.20%和86.40%~107.20%,相对标准偏差分别为6.10%~6.90%和0.73%~3.10%。本方法在植株和田水中的最低检出浓度为0.005 mg·kg⁻¹。从消解动力学方程可知,盐酸吗啉胍在水稻植株及田水中的消解半衰期分别为1.2~4.7、1.0~3.5 d。从结果判断盐酸吗啉胍属较易降解农药。

关键词:盐酸吗啉胍;降解动态;水稻植株;田水

中图分类号:X830.2

文献标志码:A

文章编号:2095-6819(2014)05-0482-05

doi: 10.13254/j.jare.2014.0090

Degradation Behavior of Moroxydine Hydrochloride in Rice Plant and Field Water Using High Performance Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry

ZHAO Lin, ZHANG Xiao-bo, REN Hong-bo, JIN Hai-tao, MA Wen-qiong, CHEN Guo-feng, LIU Feng

(Agri-product Quality and Safety Institute, Heilongjiang Academy of Agriculture Sciences, Harbin 150086, China)

Abstract: Through field experiments, which were conducted in Zhaodong County of Heilongjiang Province, Zhulou County of Henan Province and Jurong County of Jiangsu Province, the degradation dynamics of moroxydine hydrochloride in rice plant and field water were investigated. The detection was performed by tandem mass spectrometry with electrospray ionization in positive mode (ESI+). The results showed that the average recoveries of rice plant and field water at three spiked levels (0.005, 0.05, 0.5 mg·kg⁻¹) were found in the range of 92.50%~109.20% with RSD 6.10%~6.90% and 86.40%~107.2% with RSD 0.73%~3.10%, respectively. Limits of detection (LOD) of plant and water were 0.005 mg·kg⁻¹. The degradation kinetic equation showed that the half-life of moroxydine hydrochloride in rice plant and field water was 1.2~4.7 d, 1.0~3.5 d, respectively. The moroxydine hydrochloride was proved to be an easily degradable pesticide.

Keywords: moroxydine hydrochloride; degradation behavior; rice plant; field water

盐酸吗啉胍(moroxydine hydrochloride)又名病毒灵,化学名为N-(2-胍基-乙亚氨基)-吗啉盐酸盐,化学分子式为C₆H₁₄ClN₅O, CAS号:3160-91-6。盐酸吗啉胍原药为无嗅微苦的白色结晶粉末,熔点206~212℃,是一种医药和农业生产过程中常用的抗病毒制剂,用于防治人畜病毒性感冒^[1]和烟草、番茄病毒病^[2]、水稻条纹叶枯病^[3]等。目前对于盐酸吗啉胍的研究多集中在药物分析方法的开发^[4-8]以及番茄^[9]、烟草^[10]、动物性组织^[11]等农畜产品中残留分析,而对盐酸

吗啉胍在环境中的降解行为研究较少,仅见郑海香等^[10]对盐酸吗啉胍在烟草上的降解行为开展研究。盐酸吗啉胍在水稻植株和田水中的降解动态研究未见相关报道。本文对复配剂中盐酸吗啉胍在水稻植株及田水中的降解动态规律进行研究,为该农药的生态安全性评价提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 仪器设备

Waters Acquity Ultra Performance LC 超高效液相色谱仪, Waters TQD 三重四极杆质谱仪, 配电喷雾离子源(ESI); 固相萃取装置; 氮吹仪。

收稿日期:2014-04-08

基金项目:农业部农药残留基金项目(2011F273);农业部粮油产品质量安全风险项目(2014FP06)

作者简介:赵琳(1978—),女,在读博士,副研究员,主要从事农产品质量安全研究。E-mail: zhaolin78@126.com

1.1.2 试剂

三氯乙酸、庚烷磺酸钠、甲醇均为分析纯;乙腈为色谱纯;水为超纯水。Oasis HLB 固相萃取柱(Waters公司,3 mL,60 mg)。盐酸吗啉胍标准样品:纯度为98.0%。20%吗啉胍·乙酸铜可湿性粉剂:盐酸吗啉胍10%、乙酸铜10%,天津市绿亨化工有限公司。0.5 mol·L⁻¹ 庚烷磺酸钠溶液配制方法:称取10.1 g 庚烷磺酸钠用水定容至100 mL。

1.2 样品前处理

采用赵琳等^[12]研究的盐酸吗啉胍在植株中残留的测定方法称取切碎的水稻植株样品5.0 g于250 mL三角瓶中,加入40 mL 5%三氯乙酸,震荡提取60 min,上清中加入0.5 mol·L⁻¹ 庚烷磺酸钠溶液0.5 mL混匀,于4 000 r·min⁻¹离心10 min,取8.0 mL离心后的上清液,待净化。

Oasis HLB柱(3.0 mL,60 mg)使用前分别加3.0 mL 甲醇和3.0 mL 水平衡保持湿润,将离心后的上清液过柱,待全部通过后,用3 mL 甲醇/水(5/95,V/V)淋洗柱,弃去,抽干柱,用6.0 mL 甲醇洗脱被测物,洗脱液于45℃水浴中氮吹浓缩至干,1.0 mL 5%三氯乙酸溶解残渣,过0.22 μm滤膜待测。

水稻田水样品直接过0.22 μm水性滤膜待测。

1.3 仪器条件

色谱柱:Acquity UPLC®BEH C18(100 mm×2.1 mm,1.7 μm);柱温:35℃;进样量:2.0 μL;流速:0.2 mL·min⁻¹,运行时间:3 min。梯度洗脱条件见表1。

表1 梯度洗脱条件

Table 1 Condition of gradient elution

时间 Time/min	流速 Flow rate/mL·min ⁻¹	乙腈 Acetonitrile/%	0.1%甲酸水 Formic acid-water/%
0	0.20	10	90
2.00	0.20	30	70
2.10	0.20	10	90
3.00	0.20	10	90

离子源:ESI(+);毛细管电压:4.0 kV;离子源温度:120℃;脱溶剂气温度:350℃;锥孔反吹气流量:50 L·h⁻¹;脱溶剂气流量:650 L·h⁻¹;检测方式:多反应监测扫描模式(MRM),见表2。

1.4 定量

以外标标准曲线法定量,为减小基质效应对定量准确性的影响,采用基质配制工作标准溶液作标准曲线,并且保证所测化合物响应在仪器线性范围之内。残留量计算公式如下:

表2 多反应监测表

Table 2 Multiple reaction monitoring

农药 Pesticide	定性离子对 qualitative ions/m·z ⁻¹	定量离子对 quantitative ions/m·z ⁻¹	锥孔电压 cone voltage/V	碰撞能量 Collision energy/eV
盐酸吗啉胍 moroxydine hydrochloride	171.8/60.1	171.8/113.1	30	20
			30	25

$$R=C \times V / W$$

式中: R 为样品中农药残留量($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$), C 为根据标准曲线计算的农药浓度($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$), V 为样品溶液定容体积(mL), W 为称样重量(g)。

1.5 田间试验设计

2011—2012年连续2年7月—10月在黑龙江省肇东市东发乡、河南省原阳县祝楼乡、江苏省句容市华阳镇开展盐酸吗啉胍在植株和田水中的消解动态试验。

1.5.1 水稻植株消解动态试验

选3块30 m²的地块在水稻生长到成熟个体1/2大小时进行植株消解动态施药。施药剂量为制剂量11 250 g·hm⁻²,施药后2 h、1、2、3、5、7、10、14、21、28、45 d采样,处理重复3次,设空白对照。

水稻植株样本的采集:在小区中用随机方式剪取土表以上的全株1 kg,将其剪成1 cm以下的小段,混匀后用四分法分取100 g 2份,装入样品容器中,贴好标签,贮存于-20℃冰柜中保存。小区边行和每行距离两端0.5 m内不采样。

1.5.2 水稻田水消解动态试验

选1块30 m²的地块单独施药,因为在田水中施药时,田水将药物进行了一定程度的稀释,因此加大农药的施药浓度,施药浓度为高剂量制剂量56 250 g·hm⁻²,施药后2 h、1、2、3、5、7、10、14、21、28、45 d采样,另设空白对照。

田水样本的采集:在动态试验小区中,在随机的10个以上采样点用水杯取水,倒入盆中混合均匀后,取500 mL装入样品瓶中,贴好标签,贮存于-20℃冰柜中保存。

2 结果与讨论

2.1 检测方法评价

2.1.1 前处理条件和保留时间

盐酸吗啉胍易溶于水,微溶于乙醇,几乎不溶于氯仿。因此在提取植株中盐酸吗啉胍时采用水性溶液进行提取,提取农药的同时植株中水溶性杂质也被提

取出来,样品提取液浑浊。采用三氯乙酸作为提取液时,提取液澄清利于后续的净化操作。盐酸吗啉胍在 C18 色谱柱上保留较弱,加入庚烷磺酸钠可以增加其在净化柱 Oasis HLB 上的保留,提高回收率。

基质对盐酸吗啉胍在液质上面保留时间和响应值的影响非常明显,水稻植株样品经过净化后采用 5% 三氯乙酸定容上机(减少有机溶剂使用)。田水样品经 0.22 μm 水性滤膜过滤后直接上机进行测定,2 种样品上机时的定容溶剂不同造成保留时间有所差异。

2.1.2 标准曲线和方法灵敏度

将 1.0 mg·mL⁻¹ 的盐酸吗啉胍标准溶液用蒸馏水稀释配得 2.0、1.0、0.5、0.1、0.005 mg·L⁻¹ 系列标准溶液,在上述液相色谱/质谱条件下进行测定,以盐酸吗啉胍标准溶液浓度(x)与监测离子峰面积(y)作标准曲线。标样线性方程为:y=3 673.36x+45.865,相关系数为:r=0.999 1。表明盐酸吗啉胍质量浓度与色谱峰面积呈良好的线性关系,可以满足定量分析的要求。按照 3 倍信噪比计算最低检出量为 0.011 ng,根据添加回收试验该方法最低检出浓度为 0.005 mg·kg⁻¹。水

稻植株基质加标和植株空白色谱图见图 1(上图为基质加标样,标样浓度 0.005 mg·kg⁻¹,保留时间 2.17 min,下图为空白),水稻田水基质加标和水稻田水空白色谱图见图 2(上图为基质加标样,标样浓度 0.005 mg·kg⁻¹,保留时间 1.29 min,下图为空白)。

2.1.3 方法的平均回收率和相对标准偏差

分别在空白水稻田水、水稻植株中添加 3 档浓度的盐酸吗啉胍标准溶液,每档重复 5 次,添加浓度为盐酸吗啉胍最低检出浓度、10 倍和 100 倍最低检出浓度,结果见表 3。本方法在参考方法基础上优化了色谱系统和质谱系统,在保证无杂质干扰的情况下,缩短了样品的保留时间同时峰形呈正态分布,具有良好的定量和定性能力。根据我国农业行业标准 NY/T 788—2004 农药残留试验准则,对平均回收率和相对标准偏差的要求能满足农药残留分析对准确度和精密度的要求。

2.2 盐酸吗啉胍在水稻植株和水稻田水中的消解动态

两年三地田间试验结果表明(图 3~图 4),水稻植株和田水中盐酸吗啉胍残留量随时间推移而逐渐下

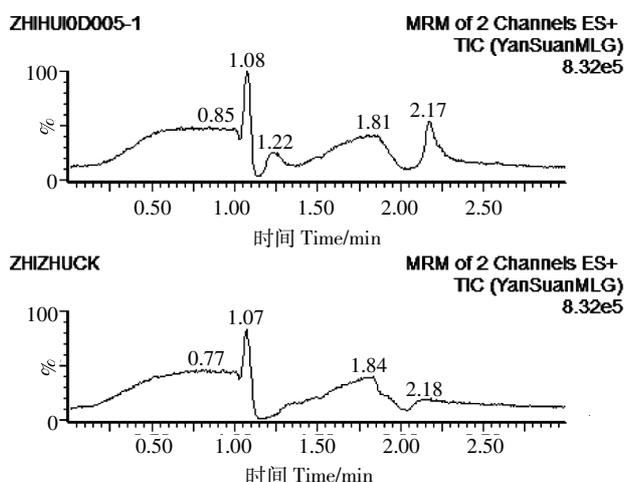


图 1 水稻植株基质加标和空白色谱图

Figure 1 Chromatogram of standard-addition in rice plant blank and blank

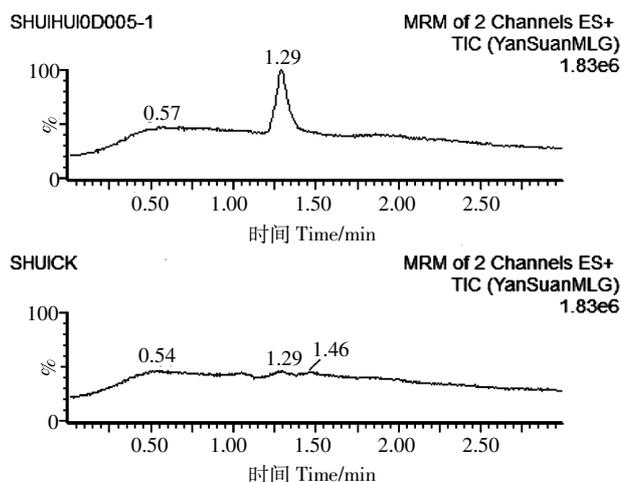


图 2 水稻田水基质加标和空白色谱图

Figure 2 Chromatogram of standard-addition infield water blank and blank

表 3 水稻植株中盐酸吗啉胍的添加回收率和相对标准偏差

Table 3 Recoveries and relative standard deviations (RSD) of moroxydine hydrochloride in rice plant and field water

基质	添加水平 Spiked level/mg·kg ⁻¹	回收率 Recovery/%					平均值 Average	RSD/%
		1	2	3	4	5		
植株 rice plant	0.005	104.00	106.00	98.00	90.00	94.00	98.40	6.8
	0.05	118.00	98.00	114.00	108.00	108.00	109.20	6.9
	0.5	96.20	88.80	99.20	93.20	85.00	92.50	6.1
田水 field water	0.005	84.00	88.00	84.00	86.00	90.00	86.40	3.0
	0.05	101.40	101.20	102.20	100.80	102.60	101.64	0.7
	0.5	105.40	106.40	103.20	109.60	111.60	107.20	3.1

降。盐酸吗啉胍在植株中平均原始沉积量约为 $13.13 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,大于田水中平均原始沉积量 $2.43 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。不同年份及不同试验点结果显示,受水稻品种、施药时期气候条件、施药或采样不均匀等因素影响,植株中盐酸吗啉胍原始沉积量有所差异。施药过程中直接将配置好浓度的农药喷施在水稻田水中,将农药进行了稀释,致使植株中盐酸吗啉胍原始沉积量大于田水中。植株中盐酸吗啉胍施药5 d时降解率为 $64.92\%\sim 99.08\%$,施药21 d时为 $80.78\%\sim 93.56\%$ 。田水中盐酸吗啉胍施药21 d时降解率为 $58.74\%\sim 92.53\%$ 。

20%吗啉·乙酸铜可湿性粉剂在稻田中施用后,其有效成分盐酸吗啉胍在水稻植株和田水中的降解符合一级化学反应动力学方程,在植株和田水中的消解半衰期分别为 $1.2\sim 4.7 \text{ d}$ 、 $1.0\sim 3.5 \text{ d}$,结果见表4。根据化学农药环境安全评价试验准则中我国农药在土壤中的降解等级划分标准,盐酸吗啉胍属较易降解农药。

施药期间不同实验地点气候条件不同、水稻植株质量和体积迅速增长,其生长稀释因素在降低水稻植株中农药残留量方面也起着重要作用,可能是导致

不同年份及不同试验点植株及田水中盐酸吗啉胍降解速率存在差异的主要原因。郑海香等^[10]研究发现盐酸吗啉胍在烟草上消解半衰期为 $5.8\sim 9.1 \text{ d}$,大于在水稻植株上的 $1.2\sim 4.7 \text{ d}$ 。水稻植株与烟草相比植株高、水分蒸发量大,农药在水稻植株中更容易降解是造成差异的部分原因。除盐酸吗啉胍外,很多农药在水田中的消解半衰期都小于旱田,如吡虫啉在水稻植株中的消解半衰期为 $0.8\sim 2.2 \text{ d}$ ^[13],而在烟草中的半衰期为 $3\sim 4 \text{ d}$ ^[14]。

3 结论

本研究采用的盐酸吗啉胍残留分析方法,前处理简单易行,能够准确定性和定量测定水稻植株和田水中的盐酸吗啉胍残留。通过两年三地农药残留田间试验,盐酸吗啉胍在水稻植株和田水中的平均消解半衰期分别为 $1.2\sim 4.7 \text{ d}$ 、 $1.0\sim 3.5 \text{ d}$,表明盐酸吗啉胍属较易降解农药。

参考文献:

[1] 原正平,王汝龙.化工产品手册(药物)[M].北京:化学工业出版社,

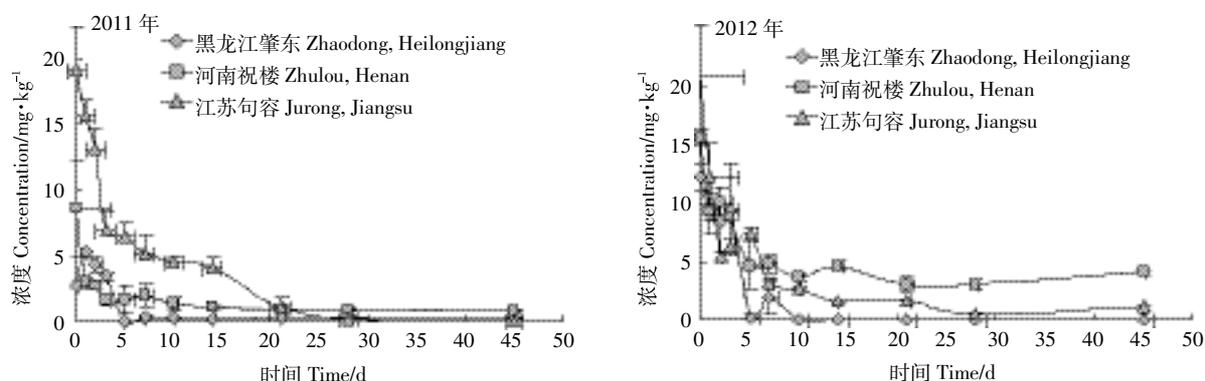


图3 盐酸吗啉胍在水稻植株中的消解曲线

Figure 3 The residues decline curves of moroxydine hydrochloride in rice plant

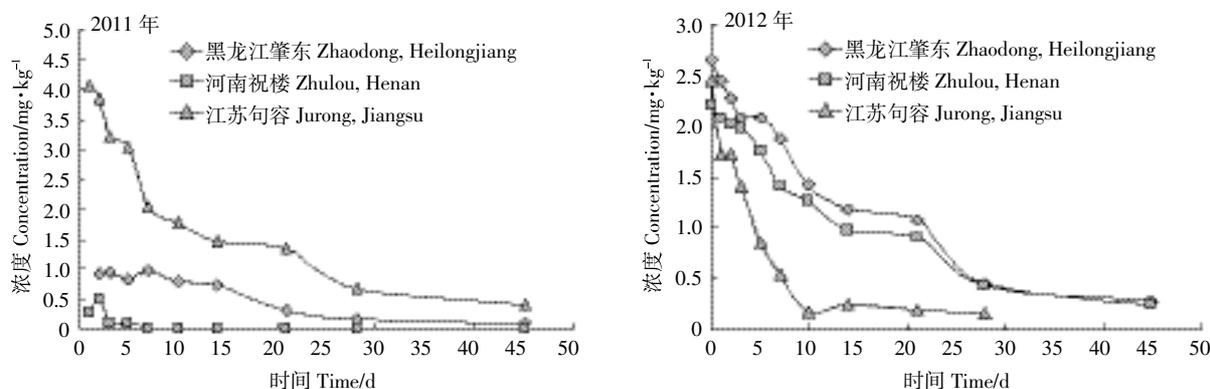


图4 盐酸吗啉胍在水稻田水中的消解曲线

Figure 4 The residues decline curves of moroxydine hydrochloride in field water

表 4 盐酸吗啉胍在水稻植株和水稻田水中的消解动力学方程
Table 4 Regression equation of moroxydine hydrochloride in rice plant and field water

样品 Sample	年份 Year	地点 Experimental site	消解动力学方程 Regression equation	相关系数 Correlation coefficient(<i>r</i>)	半衰期 Half-life/d
水稻植株 Rice plant	2011	黑龙江肇东 Zhaodong, Heilongjiang	$y=3.024\ 8e^{-0.317\ 3x}$	-0.621 8	2.2
		河南祝楼 Zhulou, Henan	$y=5.347\ 1e^{-0.192\ 0x}$	-0.917 4	3.6
		江苏句容 Jurong, Jiangsu	$y=23.33e^{-0.239\ 0x}$	-0.973 4	2.9
	2012	黑龙江肇东 Zhaodong, Heilongjiang	$y=29.589e^{-0.573\ 0x}$	-0.567 1	1.2
		河南祝楼 Zhulou, Henan	$y=13.622e^{-0.148\ 0x}$	-0.899 4	4.7
		江苏句容 Jurong, Jiangsu	$y=23.033e^{-0.318\ 7x}$	-0.951 8	2.2
水稻田水 Field water	2011	黑龙江肇东 Zhaodong, Heilongjiang	$y=1.984\ 1e^{-0.324\ 4x}$	-0.627 8	2.1
		河南祝楼 Zhulou, Henan	$y=2.306\ 3e^{-0.693\ 8x}$	-0.869 3	1.0
		江苏句容 Jurong, Jiangsu	$y=6.521e^{-0.370\ 0x}$	-0.980 3	1.9
	2012	黑龙江肇东 Zhaodong, Heilongjiang	$y=4.447\ 6e^{-0.199x}$	-0.897 0	3.5
		河南祝楼 Zhulou, Henan	$y=3.772\ 9e^{-0.197x}$	-0.905 9	3.5
		江苏句容 Jurong, Jiangsu	$y=3.991\ 6e^{-0.346\ 2x}$	-0.956 0	2.0

1987.
YUAN Zheng-ping, WANG Ru-long. Handbook of hemical products (drugs)[M]. Beijing: Chemical Industry Press, 1987.(in Chinese)

[2] 平文祥, 张 洁, 李盛贤, 等. 盐酸吗啉胍、甲基托布津对蕃茄病毒病室内联合毒力的研究[J]. 黑龙江大学自然科学学报, 1999, 16(1): 111-113.
PING Wen-xiang, ZHANG Jie, LI Sheng-xian, et al. A study on the association virulence of tomato virus with moroxydine hydrochloride and thiophanate-methyl in the laboratory[J]. *Journal of Natural Science of Heilongjiang University*, 1999, 16(1): 111-113.(in Chinese)

[3] 任春梅, 程兆榜, 邢卫锋, 等. 抗病毒剂对水稻条纹叶枯病的防效[J]. 植物保护, 2010, 36(6): 155-158.
REN Chun-mei, CHENG Zhao-bang, XING Wei-feng, et al. Effects of several antiviral agents against the rice stripe virus disease[J]. *Plant Protection*, 2010, 36(6): 155-158.(in Chinese)

[4] 朱定芳, 黄均涛. HPLC 法测定吗啉胍滴眼液中盐酸吗啉胍含量[J]. 广东药学, 2000, 10(5): 19-20.
ZHU Ding-fang, HUANG Jun-tao. Determination of moroxydine hydrochloride of moroxydine hydrochloride eye drops by HPLC[J]. *Guang-Dong Medical*, 2000, 10(5): 19-20.(in Chinese)

[5] 盛 夏. HPLC 法测定盐酸吗啉胍滴眼液的含量[J]. 安徽医药, 2011, 15(12): 1500-1501.
SHENG Xia. Determination of moroxydine hydrochloride eye drops by HPLC[J]. *Anhui Medical and Pharmaceutical Journal*, 2011, 15(12): 1500-1501.(in Chinese)

[6] 康 军, 李 征. HPLC 法测定盐酸吗啉胍片含量的考察[J]. 中国医药导报, 2011, 8(3): 58-59.
KANG Jun, LI Zheng. Content determination of moroxydine hydrochloride in moroxydine hydrochloride tablets by HPLC[J]. *China Medical Herald*, 2011, 8(3): 58-59.(in Chinese)

[7] 方东伟, 王正权. 反相高效液相色谱法测定盐酸吗啉胍片的含量[J]. 中国药业, 2006, 15(3): 42.
FANG Dong-wei, WANG Zheng-quan. Determination of moroxydine hydrochloride table by HPLC[J]. *Chinese Medicine*, 2006, 15(3): 42.(in Chinese)

[8] 周小露, 何勇虎, 伍思强. 治感佳片中乙酰氨基酚和盐酸吗啉胍的含量测定[J]. 中国药业, 2008, 17(24): 24-25.
ZHOU Xiao-lu, HE Yong-hu, WU Si-qiang. Determination of acetylaminophenol and moroxydine hydrochloride in Zhiganjia tablet[J]. *Chinese Medicine*, 2008, 17(24): 24-25.(in Chinese)

[9] 邵 辉, 张玉婷, 李 辉, 等. UPLC/MS/MS 法测定番茄中盐酸吗啉胍残留量[J]. 安徽农业大学学报, 2011, 38(6): 978-981.
SHAO Hui, ZHANG Yu-ting, LI Hui, et al. Determination of moroxydine hydrochloride in tomato by UPLC/MS/MS[J]. *Journal of Anhui Agricultural University*, 2011, 38(6): 978-981.(in Chinese)

[10] 郑海香, 安凤颖, 胡德禹, 等. 盐酸吗啉胍在烟草中的检测方法及其消解动态研究[J]. 农药科学与管理, 2012, 33(10): 30-34.
ZHENG Hai-xiang, AN Feng-ying, HU De-yu, et al. Determination of residue of moroxydine hydrochloride in tobacco[J]. *Pesticide Science and Administration*, 2012, 33(10): 30-34.(in Chinese)

[11] 祝伟霞, 杨冀州, 魏 蔚, 等. 动物组织中盐酸吗啉胍残留的高效液相色谱-串联质谱测定[J]. 分析测试学报, 2008, 27(4): 437-439.
ZHU Wei-xia, YANG Ji-zhou, WEI Wei, et al. Determination of moroxydine residue in animal tissue using high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry[J]. *Journal of Instrumental Analysis*, 2008, 27(4): 437-439.(in Chinese)

[12] 赵 琳, 张晓波, 任红波, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法测定水稻糙米和植株中盐酸吗啉胍残留[J]. 农药, 2013(11): 815-817.
ZHAO Lin, ZHANG Xiao-bo, REN Hong-bo, et al. Determination of moroxydine hydrochloride residue in brown rice and plant by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. *Pesticide*, 2013(11): 815-817.(in Chinese)

[13] 吴声敢, 吴俐勤, 徐 浩, 等. 吡虫啉在水稻及稻田环境中的残留动态研究[J]. 浙江农业学报, 2004, 16(5): 274-278.
WU Sheng-gan, WU Li-qin, XU Hao, et al. Study on residue of imidacloprid in rice and field environment[J]. *Acta Agriculturae Zhejiangensis*, 2004, 16(5): 274-278.(in Chinese)

[14] 杨 红, 章维华, 黄丽琴, 等. 吡虫啉在烟草中的残留动态研究[J]. 南京农业大学学报, 1999, 22(3): 80-82.
YANG Hong, ZHANG Wei-hua, HUANG Li-qin, et al. Study on residues of imidacloprid in tobacco[J]. *Journal of Nanjing Agricultural University*, 1999, 22(3): 80-82.(in Chinese)