

卢飞,郑尊涛,张江兆,等. 菊花中啉虫脒的残留降解规律[J]. 江苏农业科学,2021,49(6):155-159.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2021.06.027

菊花中啉虫脒的残留降解规律

卢飞^{1,3,4}, 郑尊涛², 张江兆^{1,3,4}, 沈燕^{1,2,3}

[1. 江苏省食品质量安全重点实验室-省部共建国家重点实验室培育基地,江苏南京 210014;
2. 农业农村部农药检定所,北京 100000;3. 农业农村部农产品质量安全风险评估实验室(南京),江苏南京 210014;
4. 农业农村部农产品质量安全控制技术与标准重点实验室,江苏南京 210014]

摘要:通过食用液相-质谱联用方法研究河南安阳、江苏盐城、贵州贵阳、广东广州、浙江杭州及湖北湘潭等6地菊花啉虫脒的残留降解规律,为菊花病虫害防治以及菊花中的啉虫脒残留分析提供参考。以菊花为试材,建立啉虫脒在菊花上的液相色谱-三重四极杆串联质谱(HPLC-MS/MS)测定方法,并使用该方法研究啉虫脒在菊花上的残留量动态变化和最终残留量。结果表明,以啉虫脒标准溶液的质量浓度为横坐标,峰面积为纵坐标,啉虫脒的线性回归方程为 $y = 5.92466 \times 10^7 x + 3.21149 \times 10^4$ ($r^2 = 0.99851$),峰面积与溶液质量浓度呈良好的线性关系,且啉虫脒在0.01、0.20、0.50 mg/kg 3个添加水平下,样本的添加回收率和变异系数均在允许范围内。啉虫脒在江苏盐城、河南安阳等地的半衰期差异不大,分别为2.68、2.85 d。

关键词:菊花;啉虫脒;液质联用;降解规律;半衰期;HPLC-MS/MS;残留量

中图分类号: S481+.8 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2021)06-0155-05

菊花药材在种植过程中发生病虫害较多^[1],影响菊花产量和质量,危害菊花的主要病虫害有霜霉

病、叶枯病、病毒病及蚜虫等^[2]。为保障菊花产量、质量和经济价值,田间常以化学方法对病虫害进行防治。目前对各品种药用菊花、食用菊花中农药残留量的研究较少并且没有明确的限量标准,因此本研究拟通过液相-质谱联用来分析菊花中啉虫脒的残留动态,为保障菊花食用和药用安全提供一定的理论依据^[3]。

啉虫脒为第3代氯化烟碱类杀虫剂,具有触杀、胃毒、内吸和渗透等作用方式,通过作用于害虫突触后膜上的烟酰乙酰胆碱受体,使害虫神经系统紊

收稿日期:2020-10-13

基金项目:科技部“中医药现代化研究”重点研发专项(编号:2017YFC1700800);国家自然科学基金(编号:31772198);2019年国家农产品质量安全风险评估(编号:GJFP2019010)。

作者简介:卢飞(1995—),男,安徽滁州人,硕士研究生,实习研究员,研究方向为食品安全分析。E-mail:591290412@qq.com。

通信作者:沈燕,博士,副研究员,研究方向为食品安全分析。E-mail:529816626@qq.com。

[10] Oyaizu M. Studies on products of browning reaction; antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucose amine[J]. Japanese Journal of Nutrition, 1986, 44: 307-315.

[11] Jin M, Cai Y X, Li J R, et al. 1, 10-phenanthroline-Fe²⁺ oxidative assay of hydroxy radical produced by H₂O₂/Fe²⁺ [J]. Progress Biochemistry & Biophysics, 1996, 23(6): 553-555.

[12] Duan X W, Jiang Y M, Su X G, et al. Antioxidant properties of anthocyanins extracted from litchi (*Litchi chinensis* Sonn.) fruit pericarp tissues in relation to their role in the pericarp browning [J]. Food Chemistry, 2007, 101(4): 1365-1371.

[13] Manivasagan P, Venkatesan J, Senthilkumar K, et al. Isolation and characterization of biologically active melanin from *Actinoalloteichus* sp. MA-32 [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2013, 58: 263-274.

[14] 周巾英, 欧阳玲花, 王丽, 等. 白藜芦醇清除 DPPH 自由基反

应的动力学[J]. 食品工业, 2020, 41(6): 222-226.

[15] 余佳, 王生, 许文琦, 等. 葛仙米藻胆蛋白粗提物、藻蓝蛋白和藻红蛋白的体外抗氧化活性比较研究[J]. 食品研究与开发, 2019, 40(23): 104-108.

[16] Liu F, Ng T B. Antioxidative and free radical scavenging activities of selected medicinal herbs[J]. Life Science, 2000, 66(8): 725-735.

[17] 刘占才, 牛俊英. 超氧阴离子自由基对生物体的作用机理研究[J]. 焦作教育学院学报(综合版), 2002, 18(4): 48-51.

[18] Li J W, Liu Y F, Fan L P, et al. Antioxidant activities of polysaccharides from the fruiting bodies of *Zizyphus jujuba* cv. Jinsixiaozao [J]. Carbohydrate Polymers, 2011, 84(1): 390-394.

[19] 熊双丽, 卢飞, 史敏娟, 等. DPPH 自由基清除活性评价方法在抗氧化剂筛选中的研究进展[J]. 食品工业科技, 2012, 33(8): 380-383.

乱,造成害虫兴奋、麻痹,最后死亡的效果^[4-5]。啉虫脒具有高度选择性,对同翅目、鳞翅目害虫等具有相比于同类产品更高的药效、持效性和作用速率^[6]。

为明确啉虫脒在中草药菊花中的消解动态规律及残留量,以及确定啉虫脒残留量分析方法,本研究于 2020 年 6 月在江苏省农业科学院农产品营养研究室中进行试验,对江苏盐城、河南安阳、贵州贵阳、广东广州、浙江杭州及湖北湘潭等地的菊花进行残留动态研究,旨在为制定啉虫脒在中草药菊花上的合理使用准则提供参考建议。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

主要试剂有 98% 啉虫脒 (Acetamiprid) 标准品 (上海源叶生物技术有限公司)、5% 啉虫脒微乳剂 (海南江河农药化工厂有限公司)、十八烷基键合硅胶吸附剂 (C₁₈, 上海安谱实验科技股份有限公司)、甲醇 [色谱级, 默克化工技术 (上海) 有限公司]、乙腈 (分析纯, 天津科密欧化学试剂有限公司)、N-丙基乙二胺 (PSA, 博纳艾杰尔科技有限公司)。

1.2 仪器与设备

主要仪器有 1290-6470A 液相色谱-串联质谱仪 (美国 Agilent 公司)、QL-901 涡流混合器 (江苏海门市麒麟医用仪器厂)、R10.V.V 食品切碎搅拌机 (法国 Robot Coupe 公司)、Talboys 数显型多管式旋涡混合器 (上海安谱实验科技股份有限公司)、JJ-200 百分之一电子天平 (常州双杰电子有限公司)、AL204 十万分之一电子天平 [梅特勒托利多仪器 (上海) 有限公司, 瑞士]。

1.3 试验方法

1.3.1 样品制备采集 于菊花生长中期,按照啉虫脒 30 g a. i./hm² (制剂用药量 40 mL/666.7 m²) 兑水 50 L/666.7 m²,以喷雾方法施药 1 次。药后 2 h、1、3、5、7、10、14、21、28 d 采集生长正常、无病害的地上部分菊花植株样本,同时除去明显腐坏和萎蔫部分茎叶。

1.3.2 样品提取净化 称取上述样品各 5.0 g 于 50 mL 离心管中,分别加入 20 mL 乙腈,在数显型多管式漩涡混合器中振荡 15 min,于 5 000 r/min 下离心 5 min;取 2 mL 上清经含 50 mg C₁₈ 填料和 50 mg PSA 填料的滤膜过滤,滤液置于进样瓶中,待测。

1.3.3 HPLC-MS/MS 检测条件 色谱条件:

Agilent ZORBAX Eclipse Plus C₁₈ 色谱柱 (2.1 mm × 50.0 mm, 1.8 μm);柱温为 35 °C;进样体积为 2.0 μL;流动相为 80% 乙腈和 20% 甲酸水 (甲酸浓度为 0.1%),流速设置为 0.35 mL/min。

质谱条件:电喷雾离子源;多反应监测正离子扫描模式;毛细管电压为 3 500 V;干燥气温度为 300 °C;干燥气流速为 6 L/min;喷雾器压力为 172 kPa;鞘流气温度为 250 °C;鞘流气流速为 5 L/min;采集参数见表 1。

表 1 啉虫脒的质谱参数

化合物	离子质荷比 (m/z)	传输电压 (V)	碰撞能量 (eV)
啉虫脒	223.1/126.1*	90	10
	223.1/56.0	90	10

注:“*”表示定量离子。

液相色谱三重四极杆串联质谱 (HPLC-MS/MS) 测定采用标准曲线法定量,组分含量按式 (1) 计算:

$$X_i = C_m \times V_1 \times V_2 / (V_1 \times m) \quad (1)$$

式中: X_i 表示试样中被测组分含量,mg/kg; C_m 表示从标准工作曲线得到的供试样品溶液中被测组分的质量浓度,mg/L; m 表示被测样品质量,g; V_1 表示供试样品提取液的总体积,mL; V_2 表示供试样品移取提取液的体积,mL; V_1 表示供试样品移取提取液的体积,mL; V_2 表示供试样品定容体积,mL。

2 结果与分析

2.1 检测条件的优化

采用甲醇与水的梯度洗脱为 HPLC-MS/MS 的流动相,正离子扫描反应离子监测模式检测啉虫脒,保证啉虫脒有较高的灵敏度和准确度。进入一级质谱后,在正离子检测方式下,啉虫脒产生稳定的 [M+H]⁺ 分子离子峰,即 m/z 223.1;进行二级质谱扫描,得到啉虫脒的特征碎片离子为 m/z 126.1 和 m/z 56.0,选取 m/z 126.1 为啉虫脒的定量离子, m/z 56.0 为啉虫脒的定性离子。

啉虫脒是极性较强的一种物质,按照相似相溶原理,结合样品基质的特性,选取常用的 4 种一元溶剂:乙腈、丙酮、乙酸乙酯、甲醇进行比较。按“1.3.2”节所述方法分别加入 4 种提取溶剂 (所有提取溶剂均为 20 mL) 进行提取,5 000 r/min 离心 5 min 后吸取 2 mL 提取液于小管,使用氮吹浓缩仪在 40 °C 下转换成乙腈溶剂,用乙腈定容至 2 mL,涡

旋摇匀后过 0.22 μm 滤膜,检测回收率。在所选提取溶剂用量(10 mL)一致的情况下,结果表明,乙酸乙酯和甲醇提取啶虫脒的回收率均小于 60%,而乙腈和丙酮的提取效率均较好,且回收率较高。若用丙酮提取,则基质中的色素和糖等无法去除,因此综合考虑之后,为确保目标化合物的有效提取并使提取液中的杂质较少,选用乙腈作为提取溶剂。

借鉴 QuEChERS 净化方法^[7-12],经系列浓度的 PSA 和 C_{18} 交叉处理。由表 2 可知,PSA > 100 mg 时,添加回收率 < 75.3%; C_{18} > 50 mg 时,添加回收率 < 72%。PSA \leq 100 mg 和 C_{18} \leq 50 mg 时,2 个处理添加回收率均不低于 91%,添加回收水平测试结果详见表 2。为保持良好的添加回收率,综合考虑,本试验选用 100 mg PSA 和 50 mg C_{18} 作为 QuEChERS 处理的吸附剂,此时所得添加回收率为最高值。图 1 即为液质色谱不同前处理方法的典型图谱。

表 2 不同净化条件下的添加回收水平

处理	添加回收率(%)			
	最大值	最小值	中值	平均值
1	92.2	91.0	91.6	91.6
2	71.6	70.9	71.4	71.3
3	70.9	70.4	70.7	70.5
4	94.5	93.7	93.8	94.0
5	72.1	71.2	71.5	71.6
6	57.3	56.2	56.9	56.8
7	75.3	74.3	74.5	74.7
8	70.2	69.0	69.3	69.5
9	48.1	47.2	47.5	47.6

注:处理 1 添加 50 mg PSA、50 mg C_{18} ;处理 2 添加 50 mg PSA、100 mg C_{18} ;处理 3 添加 50 mg PSA、150 mg C_{18} ;处理 4 添加 100 mg PSA、50 mg C_{18} ;处理 5 添加 100 mg PSA、100 mg C_{18} ;处理 6 添加 100 mg PSA、150 mg C_{18} ;处理 7 添加 150 mg PSA、50 mg C_{18} ;处理 8 添加 150 mg PSA、100 mg C_{18} ;处理 9 添加 150 mg PSA、150 mg C_{18} 。

2.2 方法的线性范围、定量限、精密度和准确度

使用空白溶剂,配制标准工作溶液 1、2、5、10、20、50、100、200、500、1 000 $\mu\text{g/L}$,在“1.3.3”节液相色谱-质谱条件下测定,以啶虫脒标准溶液的质量浓度为横坐标,峰面积为纵坐标,绘制标准工作曲线。其中,啶虫脒线性回归方程为 $y = 5.92466 \times 10^7 x + 3.21149 \times 10^4$ ($r^2 = 0.99851$)。峰面积与溶液质量浓度间呈良好的线性关系。以 3 信噪比为仪器检出限,啶虫脒的检出限均为 2×10^{-3} ng。

由表 3 可知,在 0.01、0.20、0.50 mg/kg 3 个添

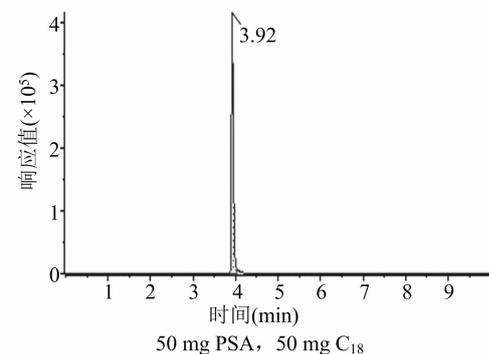
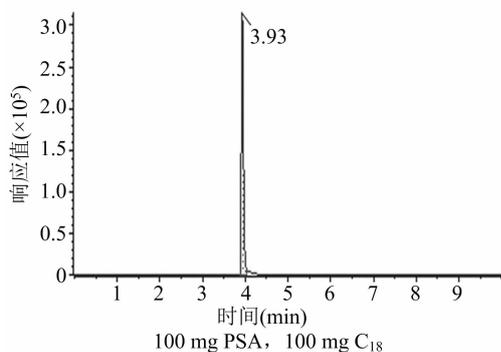
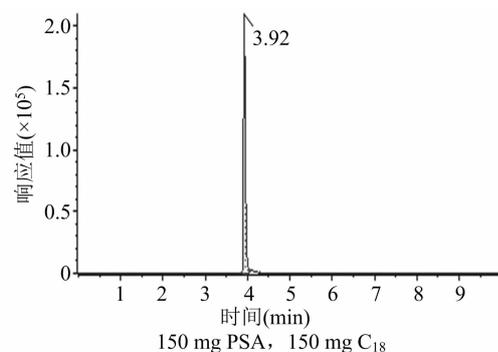


图 1 啶虫脒前处理典型图谱

表 3 啶虫脒在菊花中的添加回收率和相对标准偏差 ($n = 5$)

添加水平 (mg/kg)	回收率 (%)	相对标准偏差 (%)	定量限 (mg/kg)
0.01	90	3.9	0.01
0.20	94	3.7	
0.50	92	6.1	

加水平下,啶虫脒的添加回收率可以达到 90% ~ 94%。用此方法对样品进行处理,结果发现,啶虫脒在河南安阳、江苏盐城、贵州贵阳、广东广州、浙江杭州及湖北湘潭的回收率分别为 90% ~ 94%、94% ~ 99%、89% ~ 92%、90% ~ 93%、91% ~ 94% 和 88% ~ 94%,相对标准偏差分别为 3.7% ~ 6.1%、3.5% ~ 7.3%、3.4% ~ 5.2%、4.5% ~ 6.2%、4.6% ~ 5.6%、5.0% ~ 7.1%。各样本的添加回收率和变异系数在允许范围内,符合 NY/T

788—2018《农作物中农药残留试验准则》的要

求^[13]。空白添加典型图谱见图 2。

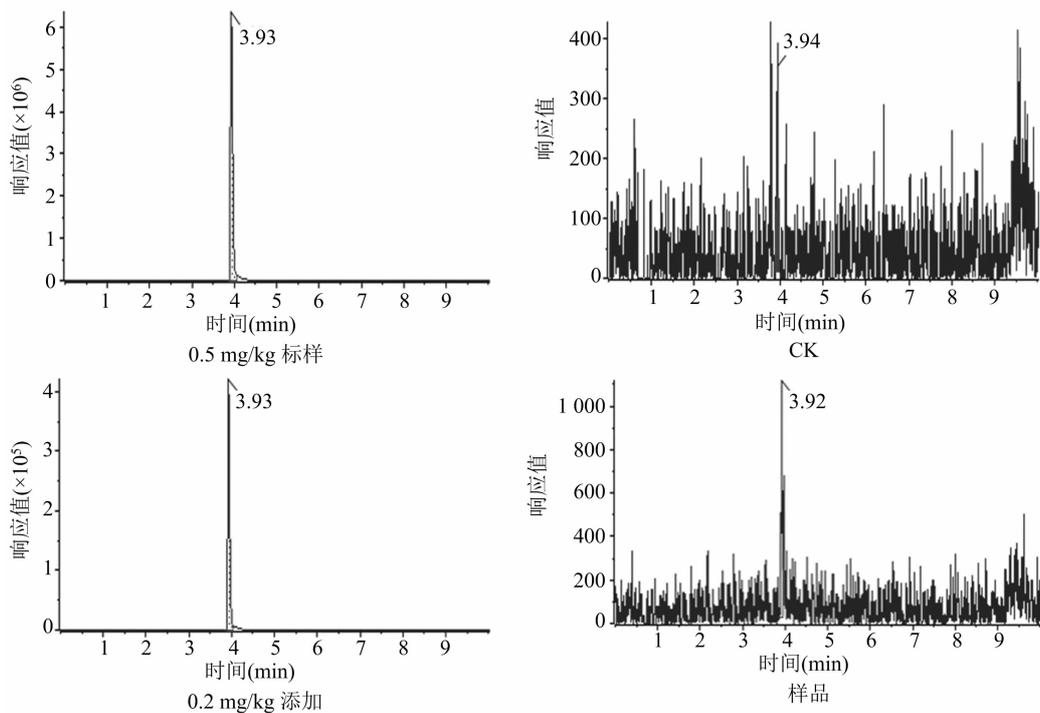


图2 啉虫脒添加典型图谱

2.3 残留消解动态

啉虫脒在菊花的原始沉积量在江苏盐城和河南安阳地区分别为 2.22、2.56 mg/kg。由图 3 可知,啉虫脒在菊花中的残留量与施药后间隔时间呈指数关系,消解动态符合一级反应动力学方程。从上述数据结果可以看出,啉虫脒在江苏盐城和河南安阳的半衰期差异不大,分别为 2.68、2.85 d(表 4)。

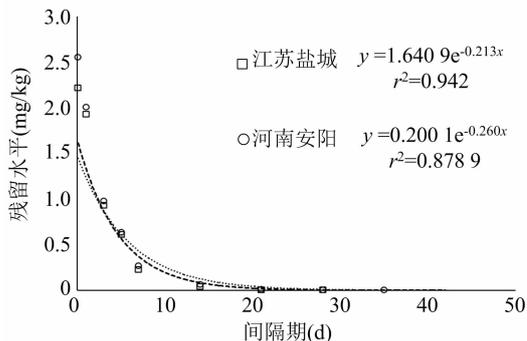


图3 啉虫脒在菊花上的消解动态

表 4 啉虫脒在菊花中的消解规律

农药	地点	消解动态方程	R ²	半衰期 (d)
啉虫脒	江苏盐城	$C_t = 1.6409e^{-0.213t}$	0.9427	2.68
	河南安阳	$C_t = 0.2001e^{-0.260t}$	0.8789	2.85

注: C_t 表示残留量, t 表示时间。

2.4 安全间隔期

在 GB 2763.1—2018《食品安全国家标准》中,对菊花中啉虫脒的限量值作出明确规定,即参考茶类饮品的限量值。施药 3 d 菊花中啉虫脒的沉积量仍略高于参考值,药后 7 d 降解至参考值以下。根据降解方程计算,啉虫脒施用 5 d 时在菊花中降解到参考国家标准限定值的参考值下,因此,在菊花中的啉虫脒建议施用安全间隔期为 5 d。

2.5 最终残留分析

由啉虫脒在菊花花瓣中的最终残留量可知,施药剂量为 30 g/hm²,施药 7、14、21 d 时,在菊花花瓣中啉虫脒的残留量均在检测限以下(图 4)。可见,施药量为 30 g/hm² 时,菊花中的残留量在 0.01 mg/kg 以下。

3 结论与讨论

本研究建立菊花中啉虫脒的 QuEChERS-LC-MS/MS 分析方法,将样品处理后,可使用仪器检测啉虫脒,且准确性高,精密度好,可以用于菊花样品中啉虫脒的定量分析。在净化条件优化过程中发现,通过选用 100 mg PSA 和 50 mg C₁₈ 作为 QuEChERS 处理的吸附剂,所得添加回收率可达最高值。

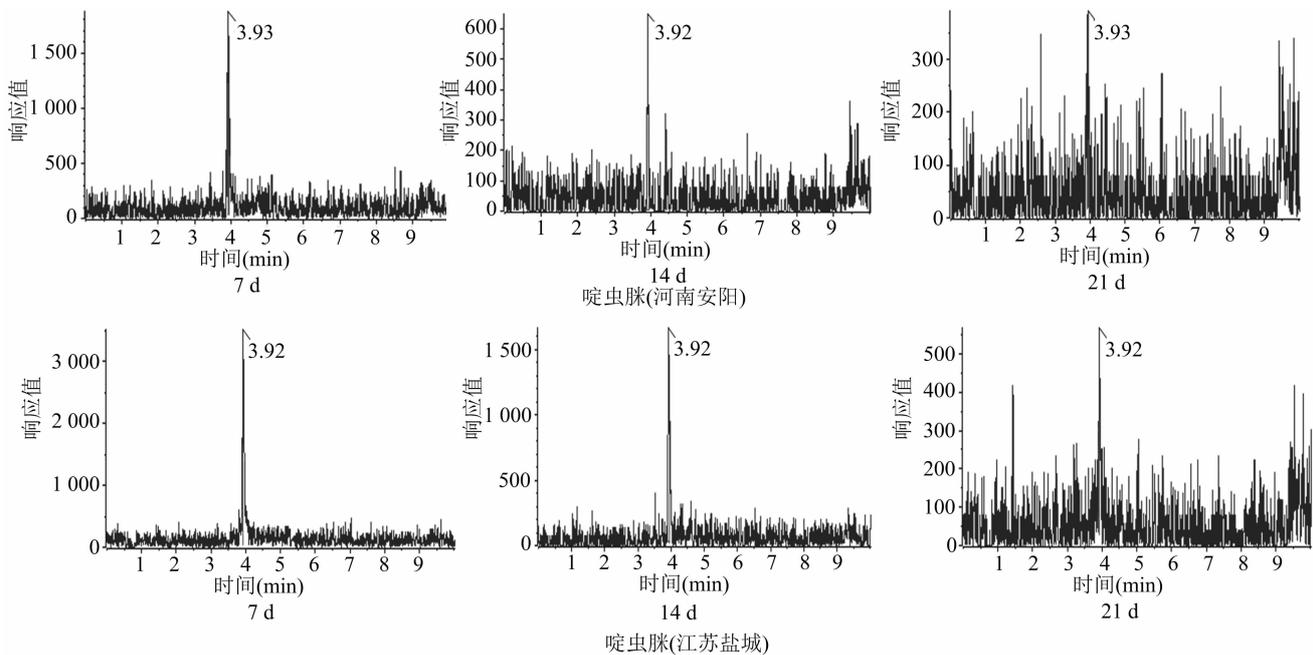


图4 啉虫脒在菊花上的终残

通过一级质谱的正离子检测和二级质谱扫描,得到啉虫脒稳定的 $[M + H]^+$ 分子离子峰 m/z 223.1, 特征碎片离子 m/z 126.1 定量离子和 m/z 56.0 定性离子。在液相色谱-质谱条件下测定,以啉虫脒标准溶液的质量浓度为横坐标,峰面积为纵坐标绘制的标准工作曲线中,啉虫脒线性回归方程的峰面积和溶液质量浓度之间呈现良好的线性关系。3 信噪比为仪器的检出限,啉虫脒的检出限均为 2×10^{-3} ng。在 0.01、0.20、0.50 mg/kg 3 个添加水平下,啉虫脒在河南安阳、江苏盐城、贵州贵阳、广东广州、浙江杭州及湖北湘潭的回收率和变异系数均在允许范围内,可满足菊花中啉虫脒及其代谢物残留检测的要求。啉虫脒在菊花中的残留量和施药后的间隔时间呈指数关系,其消解动态符合一级动力学方程。本试验测得啉虫脒在江苏盐城、河南安阳 2 地的半衰期分别为 2.68、2.85 d。最终残留结果显示,施药剂量为 30 g/hm² 时,啉虫脒在菊花中施药 7、14、21 d 的残留量均在 0.01 mg/kg 以下,啉虫脒在菊花中的建议安全间隔期为 5 d。

参考文献:

- [1] 王志华,董立坤,于静亚,等. 武汉地区菊花主要病虫害及综合防治技术[J]. 湖北林业科技,2017,46(3):38-41.
- [2] 王杰,胡惠露,张成林,等. 菊花病虫害综合防治研究[J]. 应用生态学报,2002,13(4):444-448.
- [3] 陆钊,蔡昊哲,苏义龙,等. 7 种菊花中有害物质与农药残留的分析测定[J]. 粮食与食品工业,2020,27(2):66-71.
- [4] 唐振华. 新烟碱类杀虫剂的结构与活性及其药效基团[J]. 现代农药,2002,1(1):1-6.
- [5] 李惠明,邢平,王小平,等. 啉虫脒防治蚜虫药效试验[J]. 长江蔬菜,2000(5):19-20.
- [6] 周育,庾琴,侯慧锋,等. 新型烟碱类杀虫剂啉虫脒研究进展[J]. 植物保护,2006,32(3):16-20.
- [7] 孙星,闫小龙,杨邦保,等. QuEChERS-HPLC-MS/MS 法分析丙硫菌唑及其代谢物在小麦和土壤中的残留[J]. 食品科学,2018,39(22):269-275.
- [8] Lee S W, Choi J H, Cho S K, et al. Development of a new QuEChERS method based on dry ice for the determination of 168 pesticides in paprika using tandem mass spectrometry[J]. Journal of Chromatography,2011,1218(28):4366-4377.
- [9] Li L, Jian F, Chu Y S, et al. Determination of dinotefuran residue in foods with HPLC-MS/MS[J]. Food Science,2008,29(1):538-540.
- [10] Tran K, Eide D, Nickols S M, et al. Finding of pesticides in fashionable fruit juices by LC-MS/MS and GC-MS/MS[J]. Food Chemistry,2012,134(4):2398-2405.
- [11] Duca R C, Salquebre G, Hardy E, et al. Comparison of solid phase and liquid/liquid extraction for the purification of hair extract prior to multi-class pesticides analysis[J]. Journal of Chromatography,2014,955-956(1):98-107.
- [12] 杨昌彪,付春艳,罗廷武,等. QuEChERS-LC-MS/MS 快速检测番茄 18 种农药残留[J]. 江苏农业科学,2020,48(9):218-222.
- [13] 农业农村部. 农作物中农药残留试验准则:NY/T 788—2018[S]. 北京:中国农业出版社,2018.