

◆ 残留与环境 ◆

## 桑叶中噻嗪酮和三环唑残留检测研究

李国烈

(南充农产品质量监测检验中心, 四川南充 637000)

**摘要:**建立超高效液相色谱-串联质谱方法检测桑叶中噻嗪酮和三环唑残留。样品经乙腈提取, 石墨化炭黑氨基复合柱(Carbon/NH<sub>2</sub>)净化, 在电喷雾离子源正离子多反应监测模式下检测, 基质外标法定量。噻嗪酮和三环唑的定量限均为0.001 mg/kg, 在0.000 1~0.10 mg/L质量浓度范围内线性关系良好, 相关系数大于0.999。在0.001~0.10 mg/kg质量分数范围内, 平均回收率为91.7%~104.5%, 方法精密度相对标准偏差为1.31%~8.46%。该方法灵敏度高, 准确度高, 适用于桑叶中噻嗪酮和三环唑残留量的测定。

**关键词:**桑叶; 噻嗪酮; 三环唑; 残留; 基质效应; 超高效液相色谱-串联质谱

**中图分类号:** TQ 450.2+63 **文献标志码:** A **doi:** 10.3969/j.issn.1671-5284.2024.02.013

### Study on the detection of buprofezin and tricyclazole residues in mulberry leaf

LI Guolie

(Nanchong Monitoring and Test Center for Agricultural Products Quality, Sichuan Nanchong 637000, China)

**Abstract:** An ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS) method for quantification of buprofezin and tricyclazole in mulberry leaves was developed. The samples were extracted with acetonitrile, purified by Carbon/NH<sub>2</sub>, detected under multiple reaction monitoring mode with positive electrospray ionization, and quantified by the method of matrix matched external standard. The results showed that the limits of quantification for buprofezin and tricyclazole were 0.001 mg/kg. The linear relationship was good at the concentrations of 0.000 1-0.10 mg/L, and the correlation coefficients were over 0.999. With the addition concentration of 0.001-0.10 mg/kg, the average recoveries ranged from 91.7% to 104.5%, and the relative standard deviations were 1.31%-8.46%. The method was sensitive and accurate for the determination of buprofezin and tricyclazole residues in mulberry leaves.

**Key words:** mulberry leaf; buprofezin; tricyclazole; residue; matrix effect; UPLC-MS/MS

我国拥有丰富的桑树种质资源, 随着桑树产业研究的深入发展, 目前已开发出不同功能利用途径, 已筛选出食用桑、果桑、茶用桑和药用桑等一系列桑资源品种, 并开展了多元化开发与利用<sup>[1-2]</sup>。桑叶既是药品又是食品, 其于2002年被列入《按照传统既是食品又是中药材物质目录》<sup>[3-5]</sup>。在桑树生产管理中, 病虫害防治方法主要包括农业措施、物理防治、生物防治和化学防治等, 其中, 化学防治仍是主要的防控方法<sup>[6]</sup>。农药残留会影响蚕桑生产, 四川省2016—2018年典型蚕病事件中, 农药中毒引发的

蚕病几乎占蚕病发生的50%<sup>[7]</sup>。多种杀虫剂在桑叶上都有残毒期<sup>[8]</sup>。丁小娟等<sup>[9]</sup>研究了桑园使用噻嗪酮后对家蚕的残毒期, 指出桑叶中噻嗪酮残留会导致蚕中毒死亡。在生产中用药不当或桑园化学农药污染会危害蚕桑产业生产安全和桑叶食用化产业发展及人类健康, 因此, 对桑叶中农药残留监测具有重要现实意义。

噻嗪酮是抑制昆虫生长发育的选择性杀虫剂, 是防治农业害虫的常用杀虫剂, 在桑园用于害虫防治, 具有良好的防治效果<sup>[9]</sup>。三环唑为三唑类杀菌

收稿日期: 2023-11-13

作者简介: 李国烈(1984—), 男, 四川巴中人, 硕士, 高级农艺师, 主要从事农产品质量安全检测工作。E-mail: glie2012@163.com

剂,低毒,内吸性强,被广泛应用于农业生产中真菌性病害的防治。本试验建立了桑叶中噻嗪酮和三环唑残留的分析方法,以期对桑叶中噻嗪酮和三环唑残留检测提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 仪器与试剂

超高效液相色谱-质谱联用仪(Acquity UPLC/Xevo TQ-S),Waters公司;高速研磨均质仪(Gd16plus),深圳新锐科技有限公司;离心机(3-18KS),Sigma公司;匀浆机(FP3010),Braun公司;分析天平(BSA822-CW),Sartorius公司;固相萃取小柱(Mega BE Carbon/NH<sub>2</sub>,500 mg/6 mL),Agilent公司;旋转蒸发仪(RE-2000A),上海亚荣生化仪器厂;旋涡混合器(Vortex Genius 3),IKA公司。

噻嗪酮(buprofezin,CAS登录号69327-76-0)、三环唑(tricyclazole,CAS登录号41814-78-2)标准物质样品购于北京曼哈格生物科技有限公司;乙腈、甲苯、甲醇、甲酸等试剂均为质谱级,购于美国Fisher公司;三氯乙酸、氯化钠均为分析纯,购自成都科隆化学品有限公司;蒸馏水购于Watsons公司。

### 1.2 标准溶液配制

准确移取噻嗪酮(100 mg/L)和三环唑(100 mg/L)标准物质样品1.00 mL至同一10 mL容量瓶中,用甲醇定容至刻度,摇匀,配制成质量浓度为10.00 mg/L的噻嗪酮和三环唑混合标准溶液,转移至储液瓶中,避光于-18℃及以下条件保存。

### 1.3 样品处理

#### 1.3.1 提取

称取匀浆后桑叶样品约5g(准确到5.00~5.05 g)于50 mL离心管中,加入5 mL蒸馏水、1 mL 20%三氯

乙酸水溶液和20.00 mL乙腈,再加入1颗陶瓷均质子和5 g氯化钠,涡旋混匀后置于高速研磨均质仪中提取3 min(提取温度5℃,转速2 000 r/min),提取后于8 000 r/min离心3 min,取10.00 mL上清液待净化。

#### 1.3.2 净化

Carbon/NH<sub>2</sub>小柱用乙腈+甲苯(体积比3:1)5 mL活化后,将上述待净化液上样净化,收集滤液,再用乙腈+甲苯(体积比9:1)20 mL分2次洗脱,合并滤液,于40℃下旋蒸至近干。用70%甲醇水溶液2.00 mL复溶,涡旋混匀后取适量溶液过0.22 μm PTFE材质滤膜,收集滤液待检测。

### 1.4 仪器条件

流动相采用甲醇、0.10%甲酸水溶液、乙腈,洗脱程序见表1。

表1 流动相及洗脱程序

时间/min	流速/(mL/min)	甲醇/%	0.1%甲酸水溶液/%	乙腈/%	曲线
初始	0.50	5	95	0	初始
0.5	0.50	5	95	0	线性变化
3.5	0.50	5	20	75	线性变化
5.0	0.50	5	5	90	线性变化
8.0	0.50	5	5	90	线性变化
8.5	0.50	5	95	0	线性变化

Xbridge C<sub>18</sub>色谱柱(3.0 mm×100 mm,3.5 μm),柱温35℃,样品室温度20℃,进样量2 μL。采用电喷雾离子源正离子多反应监测模式进行采集。脱溶剂气(氮气)和锥孔气(氮气)流量分别为1 000 L/h和150 L/h,碰撞气(氩气)流量为0.12 mL/min,脱溶剂温度为500℃。定量离子对、定性离子对、毛细管电压、锥孔电压和碰撞电压等相关参数见表2。

表2 质谱参数

农药	保留时间/min	定量离子对(m/z)	定性离子对(m/z)	毛细管电压/kV	锥孔电压/V	碰撞电压/V
噻嗪酮	6.07	306.2/106.1	306.2/116.1	3.00	20	26/24
三环唑	3.56	190.1/163.1	190.1/136.1	3.00	45	22/30

### 1.5 方法标准曲线和检测限

采用空白基质溶液将噻嗪酮和三环唑混合标准溶液稀释配制成质量浓度分别为0.000 1、0.000 5、0.001、0.002、0.005、0.01、0.02、0.05、0.10 mg/L的混合基质标样溶液,在1.4仪器条件下进行分析。以噻嗪酮和三环唑定量离子峰面积为纵坐标,质量浓度为横坐标作标准曲线。检出限采用在最低浓度附近添

加一系列已知浓度的双平行样品进行测定。

### 1.6 方法回收率和精密度

回收率试验采用添加回收试验法,按照0.001、0.005、0.01、0.05、0.10 mg/kg 5个添加水平加入相应的噻嗪酮和三环唑混合标准溶液,每个添加水平重复6次。所有样品按1.3进行样品前处理,在1.4仪器条件进行测定,并根据随行测定的基质标准曲线计

算样品实测浓度。

精密度试验添加水平和测定方法参照回收率试验方法。

### 1.7 方法基质效应

采用提取后加入法来评价该方法基质效应<sup>[10]</sup>。比较在纯溶剂标样溶液和桑叶空白基质提取液标样溶液2个条件下相同浓度峰面积的平均值。采用0.001、0.005、0.01、0.05、0.10 mg/L 5个质量浓度(基质浓度)水平来评价方法的基质效应。

## 2 结果与分析

### 2.1 方法选择性

该试验条件下,桑叶基质对桑叶样品中噻嗪酮和三环唑的测定干扰小,2种农药峰型良好且均可获得较强的离子峰强度,保留时间分别为6.07 min和3.56 min。噻嗪酮和三环唑空白样品图谱、试剂标样溶液图谱、基质标样溶液图谱和加标样品图谱分别见图1。

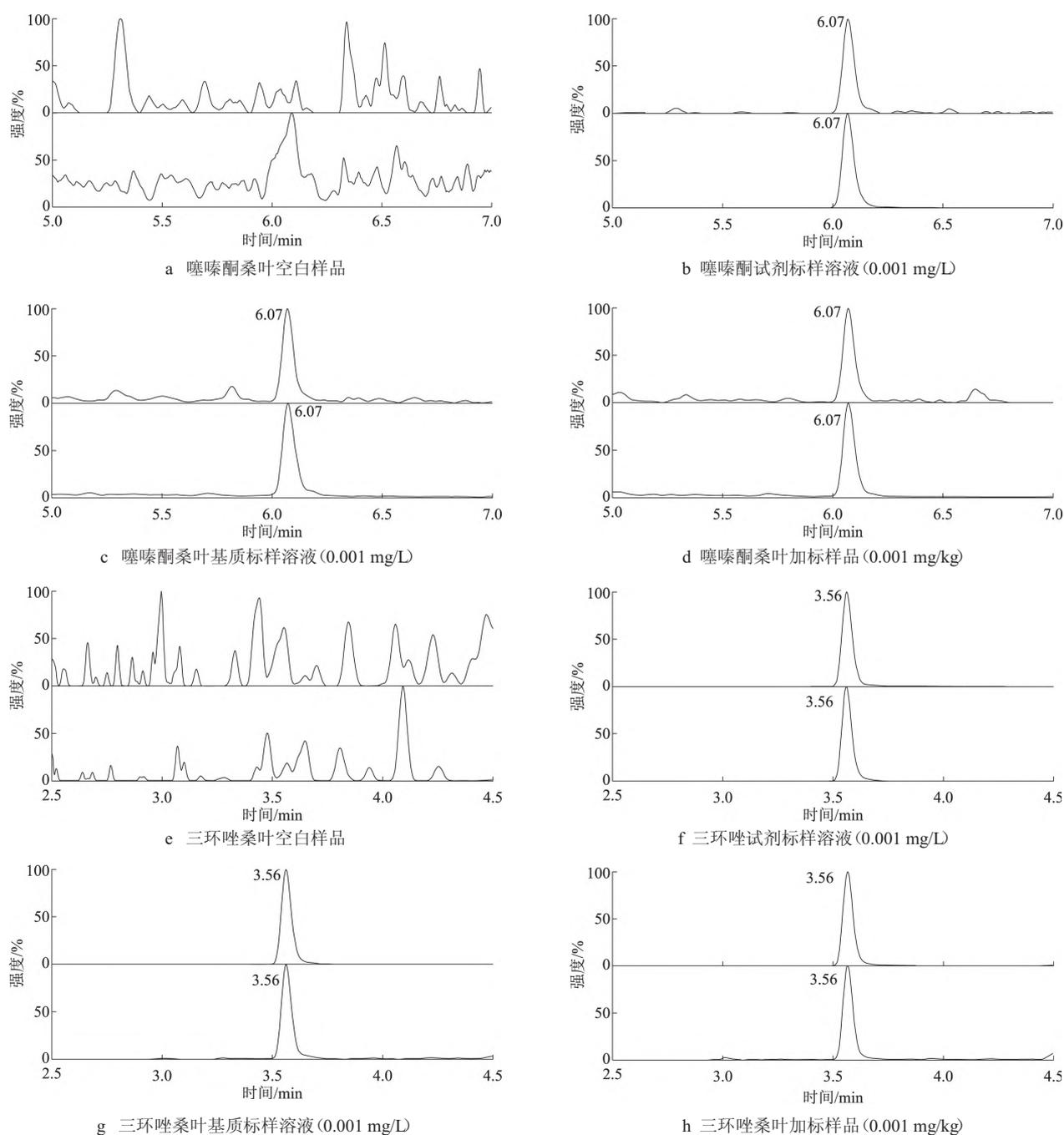


图1 噻嗪酮和三环唑样品图谱

## 2.2 标准曲线和检测限

在试验条件下,噻嗪酮、三环唑基质匹配标准曲线在质量浓度0.000 1~0.10 mg/L范围内线性关系良好,标准曲线方程分别为 $y=55\ 391.6x+15\ 339.3$  ( $r^2=0.999\ 7$ , 权重为 $1/x$ )和 $y=41\ 563.4x+4\ 697.75$  ( $r^2=0.999\ 5$ , 权重为 $1/x$ )。以3倍基线噪音的浓度为检出限<sup>[1]</sup>。噻嗪酮和三环唑在桑叶中的检测方法检出

限为0.000 1 mg/kg,定量限为0.001 mg/kg。

## 2.3 回收率和精密度

在试验条件下,噻嗪酮在桑叶中的平均回收率为91.7%~104.5%,相对标准偏差(RSD)为1.85%~7.30%;三环唑的平均回收率为93.9%~104.0%,相对标准偏差为1.55%~4.76%,结果见表3。结果表明,该试验方法具有较好的准确度。

表 3 方法回收率 (n=6)

农药	质量分数/ (mg/kg)	回收率/%						平均值	标准偏差	RSD/%
		1	2	3	4	5	6			
噻嗪酮	0.001	96.7	94.8	96.4	102.0	111.0	90.2	98.5	7.19	7.30
	0.005	105.1	95.5	103.0	101.0	97.1	98.3	100.0	3.66	3.66
	0.010	106.9	101.8	105.2	104.6	102.7	105.9	104.5	1.93	1.85
	0.050	96.9	101.1	101.6	95.2	99.4	108.7	100.5	4.71	4.69
	0.100	96.0	92.0	87.8	96.5	90.3	87.6	91.7	3.90	4.26
三环唑	0.001	106.2	100.6	102.2	103.4	112.8	99.1	104.0	4.95	4.76
	0.005	105.6	99.3	103.0	101.8	95.3	99.4	100.7	3.57	3.54
	0.010	103.3	100.8	102.2	100.7	100.2	99.8	101.0	1.56	1.55
	0.050	98.1	97.5	101.4	93.0	94.8	94.3	96.5	3.08	3.19
	0.100	96.4	94.2	92.0	96.0	93.3	91.6	93.9	2.01	2.14

方法的批内精密度相对标准偏差分别为2.14%~8.34%(噻嗪酮)和1.31%~5.79%(三环唑),批间精密度相对标准偏差分别为5.17%~8.46%(噻嗪酮)

和4.14%~6.54%(三环唑),均在10.0%以内,结果见表4。结果表明,该试验方法具有良好的重现性和稳定性。

表 4 方法精密度

农药	质量分数/ (mg/kg)	批内 (n=6)			批间 (n=3)		
		测定值/(mg/kg)	标准偏差	RSD/%	测定值/(mg/kg)	标准偏差	RSD/%
噻嗪酮	0.001	0.000 99	0.08	8.34	0.001 01	0.09	8.46
	0.005	0.004 78	0.16	3.44	0.004 99	0.26	5.24
	0.010	0.010 44	0.22	2.14	0.010 32	0.53	5.17
	0.050	0.050 24	2.35	4.69	0.050 14	3.03	6.05
	0.100	0.091 70	3.90	4.26	0.095 05	5.77	6.07
三环唑	0.001	0.001 05	0.06	5.79	0.001 02	0.07	6.40
	0.005	0.005 04	0.18	3.54	0.005 00	0.33	6.54
	0.010	0.010 12	0.13	1.31	0.010 16	0.44	4.35
	0.050	0.048 27	1.54	3.19	0.049 14	2.04	4.14
	0.100	0.093 91	2.01	2.14	0.092 05	4.19	4.55

## 2.4 基质效应

基质效应可影响检测方法准确度、精密度、检出限、定量限和线性,液相色谱-质谱联用技术普遍存在基质效应,因此分析时必须考察基质效应<sup>[12]</sup>。在该试验条件下,噻嗪酮和三环唑在0.001、0.005、0.01、0.05、0.10 mg/L 5个质量浓度(基质浓度)下的

基质效应见表5。

从结果可知:噻嗪酮和三环唑在质量浓度为0.001 mg/L时均表现出基质增强效应,分别为118.7%和121.1%;在质量浓度为0.005~0.10 mg/L时均表现为基质抑制效应,噻嗪酮为82.4%~96.3%,三环唑为71.1%~89.8%。基质标样溶液校正是补偿

基质效应的常用方法,可采用基质标样溶液校正降低基质效应对测定结果的影响<sup>[13-14]</sup>。

表5 方法基质效应(n=6)

农药	质量浓度/(mg/L)	基质效应/%	标准偏差	RSD/%
噻嗪酮	0.001	118.7	5.56	4.69
	0.005	96.3	1.47	1.53
	0.010	90.9	1.42	1.57
	0.050	84.6	0.52	0.61
	0.100	82.4	0.41	0.49
三环唑	0.001	121.1	14.09	11.63
	0.005	89.8	4.39	4.89
	0.010	80.3	2.44	3.04
	0.050	72.2	0.93	1.29
	0.100	71.1	2.82	3.97

### 3 结论

试验采用超高效液相色谱-串联质谱测定桑叶中噻嗪酮和三环唑的残留量,并采用基质标样溶液校正,降低基质效应对测定结果的影响。结果显示:在该试验条件下,噻嗪酮和三环唑峰型良好,基质对其测定干扰小,均可获得较强的离子峰强度。2种农药在质量浓度0.000 1~0.10 mg/L范围内线性关系良好,相关系数( $r^2$ )均大于0.999。在空白桑叶中分别添加0.001、0.005、0.01、0.05、0.10 mg/kg 5个质量分数标准溶液,方法平均回收率为91.7%~104.5%,相对标准偏差为1.55%~7.30%,方法精密性相对标准偏差为1.31%~8.46%。该方法灵敏度高,准确度高,适用于桑叶中噻嗪酮和三环唑残留量的测定。

#### 参考文献

[1] 何宁佳,向仲怀.桑树基因组[M].北京:中国林业出版社,2016:

16-29.

[2] 刘明鲁,张建平,张雅秋,等.桑树资源多元化开发与利用[J].蚕桑茶叶通讯,2018(3):13-14.

[3] 尹志亮,王敏,吴繁强,等.桑叶的功效及食用化开发对策[J].蚕桑茶叶通讯,2011(6):5-6.

[4] 彭宝莹,唐娇,王进博,等.桑叶安全性及保健功能评价研究进展[J].中国现代中药,2021,23(2):389-394.

[5] 陈淑莹,侯小涛,黄显婷,等.桑叶化学成分、药理作用及应用研究进展[J].辽宁中医药大学学报,2023,25(4):207-220.

[6] 张美华,陈伟国.桑园农药登记现状与发展建议[J].蚕桑通报,2022,53(1):26-32.

[7] 青学刚,李文学,陈宝瑞,等.四川近年典型蚕病事件分析与对策[J].四川蚕业,2019,47(1):44-47.

[8] 孙海燕.47种杀虫剂产品推荐浓度对家蚕的毒性试验结果摘要[J].四川蚕业,2015,43(4):52-53.

[9] 丁小娟,李俊,陈惠蓉,等.杀虫剂噻嗪酮对家蚕残毒性试验调查[J].四川蚕业,2023,51(2):53-55.

[10] MATUSZEWSKI B K, CONSTANZER M L, CHAVEZ-ENG C M. Strategies for the assessment of matrix effect in quantitative bioanalytical methods based on HPLC-MS/MS [J]. Analytical Chemistry, 2003, 75(13): 3019-3030.

[11] 张鹏翔.色谱分析中的检出限和测定下限及其确定方法[J].内蒙古科技与经济,2009(6):62-63.

[12] 向平,沈敏,卓先义.液相色谱-质谱分析中的基质效应[J].分析测试学报,2009,28(6):753-756.

[13] 苏萌,艾连峰.液相色谱-串联质谱基质效应及其消除方法[J].食品安全质量检测学报,2014,5(2):511-515.

[14] MEI H, HSIEH Y, NARDO C, et al. Investigation of matrix effects in bioanalytical high-performance liquid chromatography/tandem mass spectrometric assays: application to drug discovery[J]. Rapid Communications in Mass Spectrometry, 2003, 17(1): 97-103.

(编辑:顾林玲)

(上接第74页)

急性毒性试验:GB/T 31270.12—2014[S].北京:中国标准化出版社,2014.

[8] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局,中国国家标准化管理委员会.化学农药环境安全评价试验准则 第13部分:藻类急性活动抑制试验:GB/T 31270.13—2014[S].北京:中国标准化出版社,2014.

[9] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局,中国国家标准化管理委员会.化学农药环境安全评价试验准则 第14部分:藻类生长抑制试验:GB/T 31270.14—2014[S].北京:中国标准化出版

社,2014.

[10] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局,中国国家标准化管理委员会.化学品大型繁殖试验:GB/T 21828—2008[S].北京:中国标准化出版社,2008.

[11] MESNAGE R, ANTONIOU M N. Ignoring adjuvant toxicity falsifies the safety profile of commercial pesticides[J]. Front Public Health, 2017, 5: 361.

[12] 杜勤惠,孙道远.草甘膦除草剂表面活性剂的毒性[J].中国工业医学杂志,2018,31(5):368-371.

(编辑:顾林玲)