

Rapid Analysis of Three Kinds of Pesticide Residues Using Electrospray Ionization Mass Spectrometry

Jing Li^{1*}, Jun Yan², Wenxiang Hu^{3*}

¹School of Chemistry and Chemical Engineering, Shanxi University, Taiyuan Shanxi

²Central Research Institute of China Chemical Science and Technology, Beijing

³Beijing Excalibur Space Military Academy of Medical Sciences, Beijing

Email: ljf7777@sxu.edu.cn, huwx66@163.com

Received: Jul. 13th, 2015; accepted: Aug. 4th, 2015; published: Aug. 10th, 2015

Copyright © 2015 by authors and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

Abstract

Electrospray ionization mass spectrometry (ESI-MS) combined with electrospray ionization tandem mass spectrometry technology was used for rapid analysis of three kinds of pesticide residues. In this manuscript, the rapid analytical method for Hexaconazo, Imidacloprid residues, as well as the rule of tandem mass spectrometry for Difenconazole, was established. The method is simple and rapid. It is applicable to determine the pesticide and pesticide residues.

Keywords

Electrospray Ionization Mass Spectrometry (ESI-MS), In-Source Collision Induced Dissociation (CID), Pesticide Residues, Rapid Analysis

电喷雾质谱法快速分析三种农药的残留

李 竞^{1*}, 闫 峻², 胡文祥^{3*}

¹山西大学化学化工学院, 山西 太原

²中化化工科学技术研究总院, 北京

³北京神剑天军医学科学院, 北京

*通讯作者。

Email: lx7777@sxu.edu.cn, huwx66@163.com

收稿日期: 2015年7月13日; 录用日期: 2015年8月4日; 发布日期: 2015年8月10日

摘要

本文采用电喷雾电离质谱技术(Electrospray ionization mass spectrometry, ESI-MS)并结合源内碰撞解离质谱技术(In-source collision induced dissociation, In-source CID),对三种常见农药5%己唑醇微乳剂、30%吡虫啉微乳剂和40%苯醚甲环唑悬浮剂的化学成分进行了分析。被测样品经过溶解、稀释、过滤后,直接进行质谱分析。检测方法采用电喷雾电离离子源(ESI),5%己唑醇微乳剂样品采用负离子模式检测,30%吡虫啉微乳剂样品采用正负两种离子模式检测,40%苯醚甲环唑悬浮剂样品采用正离子模式检测。通过电喷雾电离质谱技术并结合源内碰撞解离质谱技术,分别得到了5%己唑醇微乳剂、30%吡虫啉微乳剂和40%苯醚甲环唑悬浮剂样品主要成分的分子离子和多级串联碎片离子,并分析了其可能的质谱断裂规律。该方法样品需求量少,方法简单、分析速度快,适用于农药以及农药残留的分析,并为5%己唑醇微乳剂、30%吡虫啉微乳剂和40%苯醚甲环唑悬浮剂三种农药作用机制的研究奠定了基础。

关键词

电喷雾电离质谱(ESI-MS), 源内CID, 农药残留, 快速分析

1. 引言

己唑醇(Hexaconazole)属于唑类杀菌剂,甾醇脱甲基化抑制剂,对真菌尤其是担子菌门和囊菌门引起的病害有广谱性的保护和治疗作用,具有内吸、保护和治疗活性,能有效地防治子囊菌、担子菌和半知菌所致病害,被广泛应用于茶叶中茶饼病等病害的防治[1][2]。吡虫啉(Imidacloprid)又名吡虫灵,是一种有机杂环类杀虫剂,对粮食作物、油料、蔬菜、水果等多种虫害有防治效果,可用以防治小绿叶蝉、黑刺粉虱,能替代噻嗪酮使用[3][4]。苯醚甲环唑(Difenoconazole)为三唑类杀菌剂的一种,为常用农药,具有内吸性强,杀菌谱广的特点。它既继承了三唑类杀菌剂的高效,又具备独到的作物安全性,成为全球小麦种子处理的新型农药[5][6]。但是,上述农药在发挥其杀虫杀菌作用的同时,其在农作物上的残留也十分值得关注。尤其是近年来各国对作物中农药残留的重视,农药残留的检测项目也不断增加,最大残留限量大幅度降低,低限量标准也日趋严格。如何在有限的条件下,在节约人力、物力、财力的前提下,提高工作效率,是农药残留检测人员面临的主要问题[7]-[9]。

质谱技术是用于化合物结构分析的一个重要手段,特别是近年来发展的软电离质谱如电喷雾电离质谱(ESI-MS)、大气压化学电离质谱(APCI-MS)等方法,能够为化合物解析提供丰富的化学结构信息[10]-[12]。软电离质谱技术具有样品处理简单、分析速度快、重复性好等特点,已广泛应用于天然产物化学成分的分析以及农药残留的检测[13]-[15]。

目前对农药残留的检测分析方法主要包括气相色谱法、液相色谱法、质谱法及其联用技术等[16]-[18]。传统的对农药化学成分及农作物中农药残留的检测方法主要是采用气相色谱及其联用技术[19]-[21],该方法适用于非极性及低极性化合物的分析。而本文的研究对象5%己唑醇微乳剂、30%吡虫啉微乳剂和40%苯醚甲环唑悬浮剂具有一定的极性,因此本文采用电喷雾电离质谱技术,并结合电喷雾多级串联质谱技术和源内碰撞解离质谱技术,建立了农药5%己唑醇微乳剂和30%吡虫啉微乳剂残留的快速鉴别方法,在农药吡虫啉的一级全扫描质谱图中共确定了六个特征质谱峰,在农药吡虫啉的一级全扫描质谱图中共确

定了五个特征质谱峰, 该特征质谱峰可作为农药 5%己唑醇微乳剂和 30%吡虫啉微乳剂的快速鉴别标准。同时, 本文还对农药 40%苯醚甲环唑悬浮剂的质谱断裂规律进行了研究, 从化学的角度为该农药杀菌机制的研究奠定了基础。本文的研究成果, 可以作为 5%己唑醇微乳剂、30%吡虫啉微乳剂和 40%苯醚甲环唑悬浮剂农药残留的快速检测方法, 同时也为以上三种农药的杀菌和杀虫机制研究提供了可靠的理论依据。

2. 试验部分

2.1. 仪器、试剂和材料

LTQ™ 线性离子阱质谱仪(Thermo 公司, 美国), 配以电喷雾电离离子源; 0.22 μm Filter Unit 滤膜(天津博纳艾杰科技有限公司); 5%己唑醇微乳剂和 30%吡虫啉微乳剂(四川成都); 40%苯醚甲环唑悬浮剂(山东青岛); 甲醇为色谱纯试剂(Fisher 公司, 美国); 其他试剂均为分析纯试剂(北京化工厂)。

2.2. 供试品溶液的制备

精密量取 5%己唑醇微乳剂、30%吡虫啉微乳剂和 40%苯醚甲环唑悬浮剂各 5 mL, 分别置于 100 mL 的容量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 混匀, 过 0.22 μm 微孔滤膜, 取续滤液, 分别制备成己唑醇供试品溶液、吡虫啉供试品溶液和苯醚甲环唑供试品溶液, 备用。

2.3. 质谱条件

电喷雾电离离子源(ESI), 扫描范围 m/z 100~2000, 己唑醇供试品溶液采用负离子模式检测, 吡虫啉供试品溶液采用正负两种离子模式检测, 苯醚甲环唑供试品溶液采用正离子模式检测。壳气(N_2)流速 30 arbitrary, 喷雾电压 4.5 kV, 金属加热毛细管温度 250°C, 金属毛细管电压 25 V, 透镜电压 90 V, 碰撞气体为氦气(He), 碰撞能量为 10 arbitrary~30 arbitrary。

3. 结果与讨论

己唑醇、吡虫啉和苯醚甲环唑的结构见图 1。从结构上看, 己唑醇属于唑类杀菌剂, 是留醇脱甲基化抑制剂, 吡虫啉属于烟碱类杀菌剂, 苯醚甲环唑属于三唑类杀菌剂。

3.1. 己唑醇供试品溶液的质谱分析

将己唑醇供试品溶液在负离子模式下进行质谱分析, 为了得到更为详细的离子碎片信息, 采用了碰撞诱导解离能(collision induced dissociation, CID)的方式, 碰撞能量为 15%。己唑醇供试品溶液在负离子模式下的源内 CID 质谱图见图 2。

由图 2 可知, 己唑醇在负离子模式下的源内 CID 图谱中, 主要有 m/z 312 $[M-H]^-$ 、 m/z 284 $[M-H-C_2H_4]^-$ 、 m/z 266 $[M-H-C_2H_6O]^-$ 、 m/z 256 $[M-H-C_4H_8]^-$ 、 m/z 166 $[M-H-C_6H_3Cl_2]^-$ 和 m/z 138 $[M-H-C_6H_3Cl_2-C_2H_4]^-$ 的碎片离子, 己唑醇的主要碎片离子的相对丰度和断裂规律示于表 1。

以上结果表明, 可利用 m/z 312、 m/z 284、 m/z 266、 m/z 256、 m/z 166 和 m/z 138 的碎片离子作为特征性离子, 鉴别作物中己唑醇农药的残留。

3.2. 吡虫啉微乳剂供试品溶液的质谱分析

将吡虫啉微乳剂供试品溶液在正负两种离子模式下进行质谱分析。为了得到更为详细的离子碎片信息, 采用了碰撞诱导解离能的方式, 碰撞能量为 30%。吡虫啉供试品溶液在负离子模式下的源内 CID 质谱图见图 3。

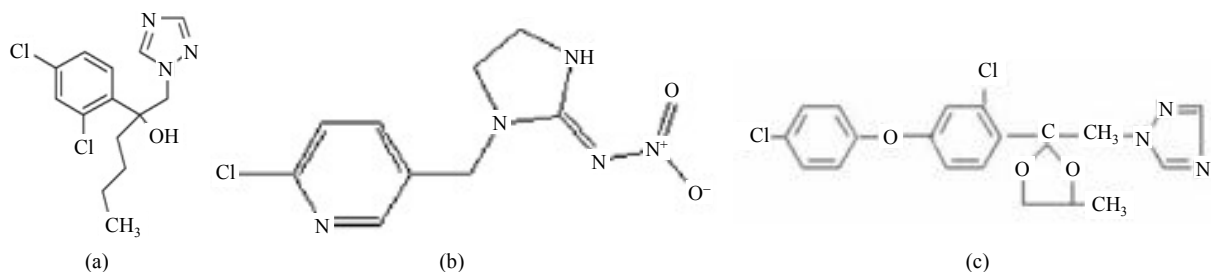


Figure 1. The chemical structures of Hexaconazole, Imidacloprid, and Difenoconazole. (a) Hexaconazole, (b) Imidacloprid, (c) Difenoconazole

图 1. 己唑醇、吡虫啉和苯醚甲环唑的结构。(a) 己唑醇, (b) 吡虫啉, (c) 苯醚甲环唑

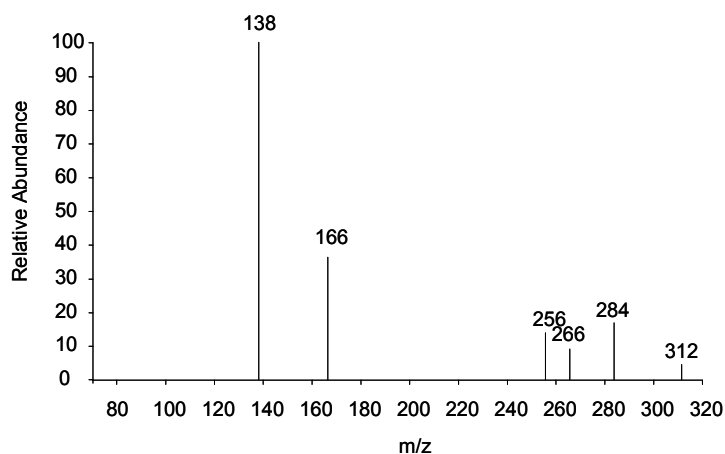


Figure 2. In-source CID spectra of Hexaconazole in negative ion mode

图 2. 己唑醇供试品溶液在负离子模式下的源内 CID 质谱图

Table 1. The main ion information of Hexaconazole in negative ion mode

表 1. 己唑醇在负离子模式下的主要碎片离子信息

质荷比(m/z)	相对丰度(%)	断裂规律
312	4.24	[M-H] ⁻
284	16.67	[M-H-C ₂ H ₄] ⁻
266	8.10	[M-H-C ₂ H ₆ O] ⁻
256	12.79	[M-H-C ₄ H ₈] ⁻
166	35.46	[M-H-C ₆ H ₃ Cl ₂] ⁻
138	100.00	[M-H-C ₆ H ₃ Cl ₂ -C ₂ H ₄] ⁻

由图 3 可知,在负离子模式下,吡虫啉供试品溶液源内 CID 质谱图中主要有 m/z 254 [M-H]⁻ 和 m/z 195 [M-N₂O₂]⁻ 的碎片离子;在正离子模式下,吡虫啉供试品溶液在源内 CID 质谱图中主要有 m/z 256 [M+H]⁺、 m/z 209 [M+H-NO₂]⁺ 和 m/z 175 [M+H-Cl-NO₂]⁺ 的碎片离子。吡虫啉供试品溶液的主要碎片离子的相对丰度和断裂规律示于表 2。

以上结果表明,在负离子模式下可利用 m/z 254 和 m/z 195 的碎片离子作为鉴别作物中吡虫啉农药残留的特征性离子;在正离子模式下可利用 m/z 256、 m/z 209 和 m/z 175 作为鉴别作物中吡虫啉农药残留的特征性离子。

3.3. 苯醚甲环唑供试品溶液的质谱分析

苯醚甲环唑在正离子模式下的一级全扫描质谱图见图 4。

由图 4 可知, 苯醚甲环唑供试品溶液在一级全扫描质谱中, 主要有 m/z 406 和 m/z 428 的分子离子, 分别为苯醚甲环唑的加氢 $[M+H]^+$ 峰和加钠 $[M+Na]^+$ 峰。为了进一步研究苯醚甲环唑的质谱断裂规律, 对苯醚甲环唑供试品溶液进行多级串联质谱研究。苯醚甲环唑供试品溶液在正离子模式下的二级和三级串联质谱图见图 5。

从图 5(a)可以看出, 在苯醚甲环唑供试品溶液的二级串联质谱中, m/z 406 的碎片离子峰主要有 m/z 337 $[M+H-C_2H_3N_3]^+$ 、 m/z 291 $[M+H-C_2H_3N_3-C_2H_6O]^+$ 和 m/z 251 $[M+H-C_2H_3N_3-C_4H_6O_2]^+$ 的碎片离子。而由图 5(b)可知, 在苯醚甲环唑供试品溶液的三级串联质谱中, m/z 337 的碎片离子峰主要有 m/z 291 $[M+H-C_2H_6O]^+$ 和 m/z 251 $[M+H-C_4H_6O_2]^+$ 的碎片离子。苯醚甲环唑供试品溶液多级串联质谱的主要碎片离子示于表 3。根据多级串联质谱分析, 我们得到了苯醚甲环唑供试品溶液的质谱断裂规律。

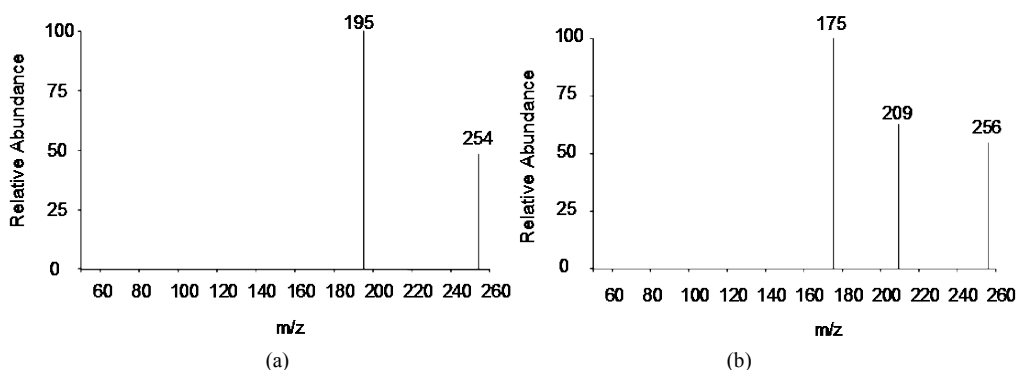


Figure 3. In-source CID spectra of imidacloprid in positive and negative ion mode. (a) Negative ion mode; (b) Positive ion mode

图 3. 吡虫啉供试品溶液在负离子模式下的源内 CID 质谱图。(a) 负离子模式; (b) 正离子模式

Table 2. The main ion information of imidacloprid in positive and negative ion mode

表 2. 吡虫啉供试品溶液在正负离子模式下的主要碎片离子信息

	相对丰度(%)	断裂规律
254	100.00	$[M-H]^-$
195	48.57	$[M-N_2O_2]^-$
256	54.47	$[M+H]^+$
209	62.67	$[M+H-NO_2]^+$
175	100.00	$[M+H-Cl-NO_2]^+$

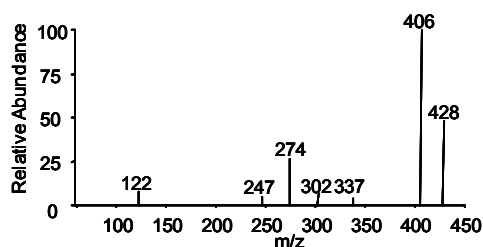


Figure 4. Full scan spectrum of Difenoconazole in positive ion mode

图 4. 苯醚甲环唑供试品溶液在正离子模式下的一级全扫描质谱图

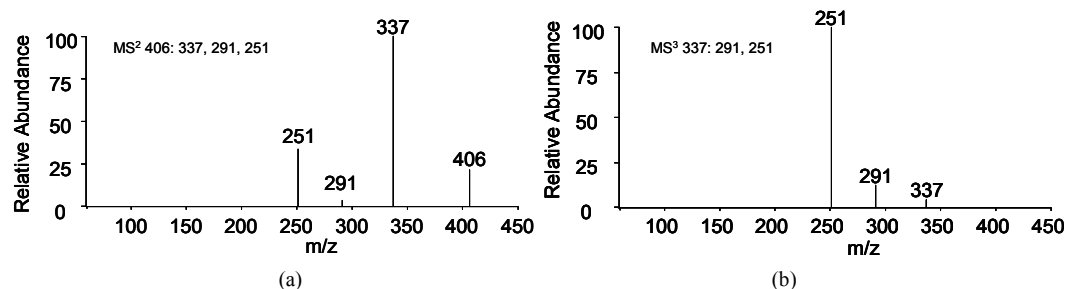


Figure 5. The tandem mass spectra of Difenoconazole. (a) MS² 406>; (b) MS³ 406>337>
图 5. 苯醚甲环唑供试品溶液的二级串联质谱图。(a) MS² 406>; (b) MS³ 406>337>

Table 3. The main ion information of Difenoconazole in tandem mass spectra
表 3. 苯醚甲环唑供试品溶液在多级串联质谱中的主要碎片离子

MS	MS ² (406)	MS ³ (337)
406(100)[M+H] ⁺	337(100) [M+H-C ₂ H ₃ N ₃] ⁺ 291(4) [M+H-C ₂ H ₃ N ₃ -C ₂ H ₆ O] ⁺ 251(34) [M+H-C ₂ H ₃ N ₃ -C ₄ H ₆ O ₂] ⁺	291 [M+H-C ₂ H ₆ O] ⁺ 251 [M+H-C ₄ H ₆ O ₂] ⁺
428(50)[M+N _a] ⁺	—	—

4. 结论

本文采用电喷雾多级串联质谱技术并结合源内碰撞解离质谱技术,以我国常用农药 5%己唑醇微乳剂、30%吡虫啉微乳剂和 40%苯醚甲环唑悬浮剂为代表,对其主要的质谱行为和断裂规律进行了研究。此方法简单、快速,为深入研究农药物质基础和构效关系提供了可靠的理论依据,同时本方法也可以作为一种快速检测方法,用于农作物中农药残留的检测。

参考文献 (References)

- [1] 杨尚春, 杨晓云, 宁焕焱, 等 (2010) MSPD-GC-ECD 快速分析茶叶中己唑醇的残留. *农药*, **49**, 750-752.
- [2] 韩玲娟, 宋稳成, 王鸣华 (2012) 己唑醇在土壤中的吸附-解吸特性. *环境化学*, **31**, 367-371.
- [3] 张艳, 王晓菁, 牛艳, 等 (2012) 吡虫啉在枸杞中的残留动态. *西北农业学报*, **21**, 184-186.
- [4] 王圣印, 刘永杰, 周仙红, 等 (2012) 新烟碱杀虫剂吡虫啉的研究进展. *江西农业学报*, **24**, 76-79.
- [5] 沈伟健, 杨雯莹, 沈崇钰 (2007) 气相色谱-负化学离子源质谱法检测食品中苯醚甲环唑的残留量. *色谱*, **25**, 418-421.
- [6] 闫晓静, 许月, 高圆圆, 等 (2013) 三唑酮和苯醚甲环唑种子处理对小麦安全性和产量的影响研究. *农药科学与管理*, **34**, 52-57.
- [7] 陈丽娜, 宋凤瑞, 郑重, 等 (2012) 人参中农药多残留的高校液相色谱-串联质谱分析方法研究. *化学学报*, **70**, 843-851.
- [8] 黄帆, 王传现, 张缙, 等 (2013) 高效液相色谱-串联质谱法检测动物源食品中硝呋索尔代谢残留. *质谱学报*, **34**, 82-87.
- [9] Chen, L.N., Song, F.R., Liu, Z.Q., et al. (2012) Multi-residue method for fast determination of pesticide residues in traditional Chinese medicine by ultra performance liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, **1225**, 132-140. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chroma.2011.12.071>
- [10] 闫峻, 刘舒, 皮子凤, 等 (2011) 复方板蓝根颗粒抗病毒成分 HPLC-UV 指纹图谱及 LC-ESI-MSⁿ 研究. *化学学报*, **69**, 204-208.
- [11] 刘舒, 闫峻, 李惠琳, 宋凤瑞, 刘忠英, 刘志强, 刘淑莹 (2010) 复方板蓝根颗粒化学成分的质谱研究. *高等学校化学学报*, **6**, 1137-1142.

- [12] 周慧, 宋凤瑞, 刘志强, 郑毅男, 刘淑莹 (2008) 刺五加叶的 HPLC-UV 和 ESI-MS 指纹图谱研究. *质谱学报*, **6**, 321-326.
- [13] 李佳斌, 郝斐然, 田芳, 张养军 (2013) 质谱电喷雾电离源研究新进展. *质谱学报*, **2**, 65-74.
- [14] 张新忠, 罗逢健, 陈宗懋, 吕美玲 (2012) 超高效液相色谱 - 四极杆飞行时间质谱测定茶叶中手性农药茚虫威对映体残留. *质谱学报*, **6**, 321-326.
- [15] 彭涛, 李晓娟, 代汉慧, 陈冬东, 林燕, 王国民 (2012) 色质联用技术在保健食品违禁化学物质分析中的应用. *质谱学报*, **6**, 370-379.
- [16] Hiemstra, M. and de Kok, A. (2007) Comprehensive multi-residue method for the target analysis of pesticides in crops using liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatogra A*, **1154**, 3-25. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chroma.2007.03.123>
- [17] Gilbert-López, B., García-Reyes, J.F., Meyer, C., Michels, A., Franzke, J., Molina-Díaz, A. and Hayen, H. (2012) Simultaneous testing of multiclass organic contaminants in food and environment by liquid chromatography/dielectric barrier discharge ionization-mass spectrometry. *Analyst*, **137**, 5403-5410. <http://dx.doi.org/10.1039/c2an35705d>
- [18] 王孝辉, 宛晓春, 侯如燕 (2012) 茶叶中吡虫啉农药残留的液相色谱检测方法. *茶叶科学*, **3**, 203-209.
- [19] 樊中臣, 施艳红, 操海群, 花日茂, 岳永德, 汤锋 (2011) 气相色谱法测定平菇中拟除虫菊酯类农药残留. *安徽农业大学学报*, **4**, 559-562.
- [20] 吴丽华, 李建科 (2006) 气相色谱法在农药残留分析中的应用. *粮油食品科技*, **4**, 57-58.
- [21] 付小芳, 李晶, 王鹏, 赵晓亚, 尚吟竹, 孙明局, 叶诚 (2012) 气相色谱法 - 串联质谱法检测果蔬中己唑醇残留. *食品科学*, **4**, 227-229.