

# 超高效液相色谱三重四极杆质谱联用法测定葡萄酒中多菌灵等农药残留

## LCMSMS-059

**摘要：**本文建立了一种使用岛津超高效液相色谱仪和三重四极杆质谱仪联用测定葡萄酒中多菌灵、甲基托布津和甲霜灵农药残留的方法。葡萄酒中多菌灵、甲基托布津和甲霜灵农药经固相萃取富集后，使用超高效液相色谱 LC-30A 快速分离，三重四极杆质谱仪 LCMS-8040 进行定量分析。使用外标法内绘制多菌灵、甲基托布津和甲霜灵的校准曲线，线性范围宽，校准曲线的相关系数均在 0.999 以上。对 5 μg/L、10 μg/L 和 50 μg/L 混合标准溶液进行精密度实验，连续 6 次进样保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.030% ~ 0.212% 和 0.912% ~ 2.978% 之间，系统精密度良好。

**关键词：**三重四极杆质谱 葡萄酒 多菌灵 甲基托布津 甲霜灵

近日，一则关于某知名品牌葡萄酒检出“农残”的报道，让酒类企业再次陷入食品质量安全的风波。某杂志将国内三家葡萄酒企业的 10 款产品送经国家食品质量监督检验中心检测。结果显示，各款葡萄酒均检出多菌灵或甲霜灵农药残留。多菌灵和甲霜灵是两种常见的葡萄用农药，世界各主要葡萄生产国都在使用。多菌灵在美国不允许使用，因为存在导致肝癌的风险，但美国允许使用甲基托布津（与多菌灵分子结构相似），也有相应的残留量标准。据了解，世界各国对甲霜灵和多菌灵的最大残留量都有规定。以多菌灵为例，澳大利亚葡萄酒标准是 3 mg/kg，加拿大 5 mg/kg，欧盟 0.5 mg/kg，日本 3 mg/kg，美国 10 mg/kg。目前，我国尚没有专门针对葡萄酒的农药残留标准。

高效液相色谱-串联质谱联用技术具有很高的选择性和灵敏度，适合于复杂基体中的有机物残留痕量分析，且准确度高。本文建立了使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 和三重四极杆质谱仪 LCMS-8040 联用测定葡萄酒中多菌灵、甲基托布津和甲霜灵农药残留的方法。

## 实验部分

### 1.1 仪器

本实验使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 与三重四极杆质谱仪 LCMS-8040 联用系统。具体配置为 LC-30AD×2 输液泵，DGU-20A<sub>5</sub> 在线脱气机，SIL-30AC 自动进样器，CTO-30AC 柱温箱，CBM-20A 系统控制器，LCMS-8040 三重四极杆质谱仪，LabSolutions Ver. 5.50 色谱工作站。

### 1.2 分析条件

液相条件

色谱柱：Shim-pack XR-ODS III 2.0 mm I.D. × 50 mm L., 1.6 μm

流动相：A 相 -5 mM 醋酸铵水溶液；

B 相 - 乙腈

流速：0.5 mL/min

柱温：40℃

进样量：5 μL

洗脱方式：梯度洗脱，B 相初始浓度为 15%，洗脱程序见表 1。

表 1 梯度洗脱程序

Time(min)	Module	Command	Value
1.60	Pumps	Pump B Conc.	80
2.00	Pumps	Pump B Conc.	80
2.01	Pumps	Pump B Conc.	15
3.00	Controller	Stop	

### 质谱条件

离子化模式：ESI(+)

离子喷雾电压：4.5 kV

雾化气：氮气 3.0 L/min

干燥气：氮气 20 L/min

碰撞气：氩气

DL 温度：250℃

加热模块温度：450℃

扫描模式：多反应监测 (MRM)

驻留时间：50 ms

延迟时间：3 ms

MRM 参数：见表 2

### 1.3 标准品溶液的配制

标准物质：共 3 种，分别为多菌灵、甲基托布津和

甲霜灵。

标准工作溶液配制: 用甲醇配制 1.0 mg/L 的混合标准中间溶液, 用乙腈水溶液 (V/V, 15:85) 稀释成 0.5 μg/L、1 μg/L、5 μg/L、10 μg/L、50 μg/L、100 μg/L、200 μg/L 和 500 μg/L 不同浓度的混合标准工作液。

#### 1.4 样品前处理方法

参照《果蔬汁、果酒中 512 种农药及相关化学品残留量的测定 液相色谱 - 串联质谱法》(GBT 23206-2008) 中的样品提取和净化方法。

表 2 MRM 优化参数

化合物名称	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bais(V)	CE(V)	Q3 Pre Bais(V)
多菌灵	192.1	160.0*	-20	-18	-30
		132.0	-20	-29	-23
甲基托布津	343.1	151.0*	-17	-20	-28
		310.9	-17	-11	-21
甲霜灵	280.1	220.1*	-29	-13	-24
		248.1	-29	-11	-28

注: \*表示定量离子

## 结果与讨论

### 2.1 标准样品一级质谱图和产物离子扫描质谱图

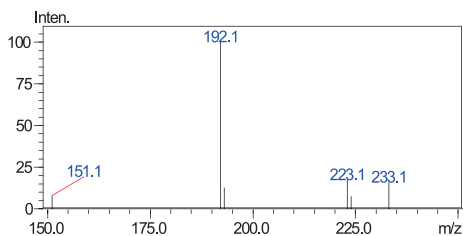


图 1 多菌灵的一级质谱图

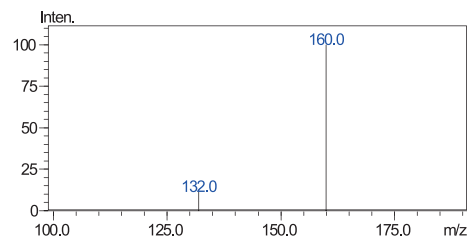


图 2 多菌灵的产物离子扫描图 (CE值 2V)

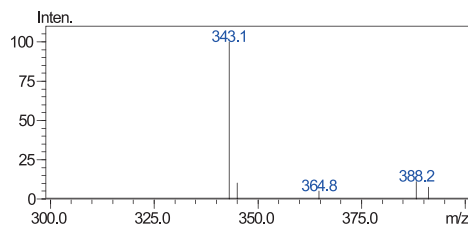


图 3 甲基托布津的一级质谱图

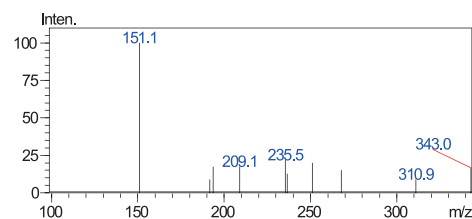


图 4 甲基托布津的产物离子扫描图 (CE值-15V)

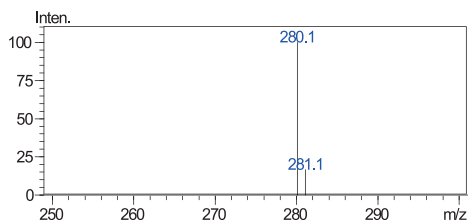


图 5 甲霜灵的一级质谱图

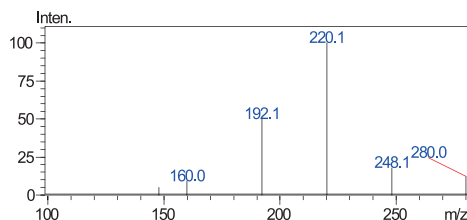


图 6 甲霜灵的产物离子扫描图 (CE值-15V)

## 2.2 标准样品的 MRM 色谱图

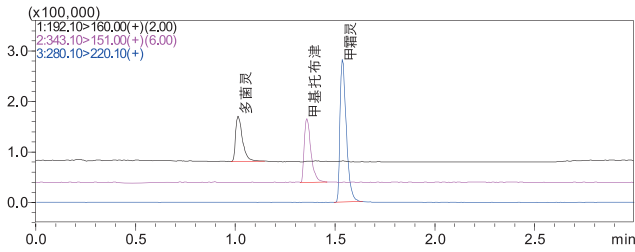


图 7 标准样品的 MRM 色谱图 (10 µg/L)

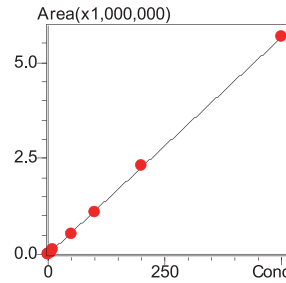


图 8 多菌灵校准曲线

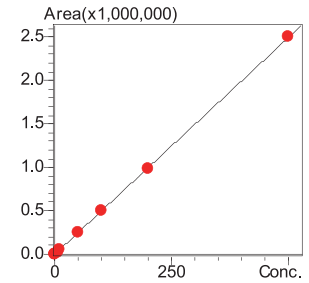


图 9 甲基托布津校准曲线

## 2.3 线性范围

将 0.5 µg/L、1 µg/L、5 µg/L、10 µg/L、50 µg/L、100 µg/L、200 µg/L 和 500 µg/L 不同浓度的混合标准工作液不同浓度的混合标准工作液按 1.2 中的分析条件进行测定, 外标法定量。以浓度为横坐标, 峰面积为纵坐标, 绘制校准曲线如图 8~ 图 11 所示; 所得校准曲线线性关系良好, 线性方程及相关系数见表 3。

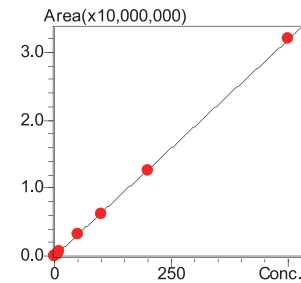


图 10 甲霜灵校准曲线

## 2.4 精密度实验

对不同浓度混合标准工作液连续测定 6 次, 考察仪器的精密度, 保留时间和峰面积的重复性结果如表 4 所示。结果显示: 不同浓度标准品保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.030% ~ 0.212% 和 0.912% ~ 2.978% 之间, 仪器精密度良好。

表 4 保留时间和峰面积重复性结果 (n=6)

样品名称	RSD% ( 5 µg/L )		RSD% ( 10 µg/L )		RSD% ( 50 µg/L )	
	R.T.	Area	R.T.	Area	R.T.	Area
多菌灵	0.104	2.978	0.118	1.829	0.212	2.078
甲基托布津	0.174	2.426	0.071	1.539	0.088	0.912
甲霜灵	0.030	1.995	0.056	1.334	0.055	1.170

## 2.5 灵敏度实验

为了考察仪器灵敏度, 配制浓度为 1.0 µg/L 标样 7 份, 平行进样 7 次分析结果, 色谱图如图 11 所示。由 7 次进样测定的标准偏差 (S) 计算出检测限和最低定量浓度, 此时检出限 MDL = 3.14 × S, 定量下限 LOQ=4 × MDL。测定结果如表 5 所示。

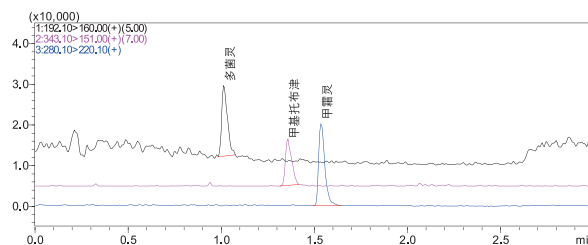


图 11 测试样品 (1.0 µg/L) 的 MRM 色谱图

表 5 灵敏度实验结果

No.	名称	标准偏差 (S)	检出限 (µg/L)	定量限 (µg/L)
1	多菌灵	0.05	0.16	0.63
2	甲基托布津	0.06	0.19	0.75
3	甲霜灵	0.03	0.09	0.38

## 2.6 回收率实验

以葡萄酒为待测样品，检测多菌灵、甲基托布津和甲霜灵农药残留。在葡萄酒样品中有检出上述农药残留，色谱图如图 12，检测结果见表 6。以 15 mL 葡萄酒样品为研究对象，加入多菌灵、甲基托布津和甲霜灵标准物质，加标浓度分别为 40  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、8  $\mu\text{g}/\text{kg}$  和 40  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，加标色谱图如图 13 所示。葡萄酒样品中多菌灵、甲基托布津和甲霜灵农药残留与加标回收率结果见表 6。本实验满足 GB/T 27404-2008《实验室质量控制规范 食品理化检测》样品含量 < 0.100 mg/kg 时，回收率在 60~120% 之间要求。

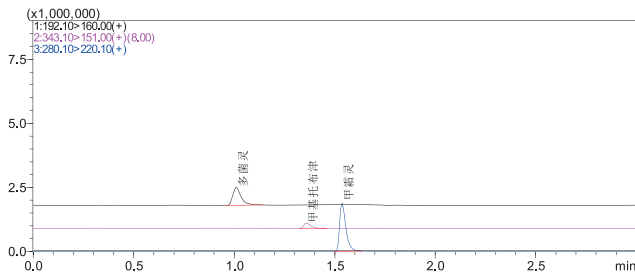


图 12 葡萄酒样品的 MRM 色谱图

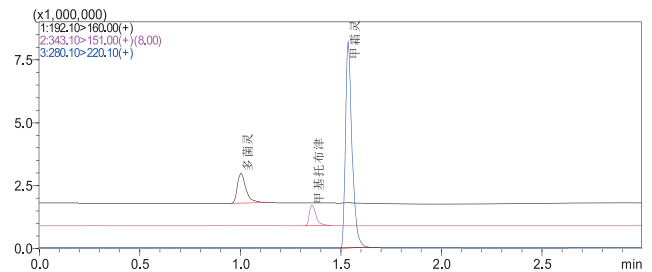


图 13 葡萄酒样品加标的 MRM 色谱图

表 6 回收率实验结果

No.	名称	基质浓度 ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	加标浓度 ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	实测浓度 ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	回收率 (%)
1	多菌灵	20.43	40	44.53	60.25
2	甲基托布津	1.64	8	6.61	62.13
3	甲霜灵	8.25	40	40.08	79.58

## 2.7 实际样品检测结果

以 2 种市售葡萄酒作为检测样品，检测其中的多菌灵、甲基托布津和甲霜灵农药残留，均检出上述农药残留，检测结果如表 7 所示。

表 7 市售葡萄酒样品的检测结果

No.	名称	市售葡萄酒 1 ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	市售葡萄酒 2 ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )
1	多菌灵	20.43	23.80
2	甲基托布津	1.64	3.05
3	甲霜灵	8.25	5.42

## 结论

本文建立了一种使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 和三重四极杆质谱仪 LCMS-8040 联用测定葡萄酒中多菌灵、甲基托布津和甲霜灵农药残留的方法。该方法在 3 min 之内完成多菌灵、甲基托布津和甲霜灵 3 种目标化合物的分离分析，且线性范围宽，校准曲线的相关系数均在 0.9999 以上。对 5  $\mu\text{g}/\text{L}$ 、10  $\mu\text{g}/\text{L}$  和 50  $\mu\text{g}/\text{L}$  混合标准溶液进行精密度实验，连续 6 次进样保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.030% ~ 0.212% 和 0.912% ~ 2.978% 之间，系统精密度良好。该方法具有分析速度快、灵敏度高、重复性好的特点，适合葡萄酒中多菌灵、甲基托布津和甲霜灵农药残留的检测。