

◆ 环境与残留 ◆

超高效液相色谱-串联质谱法测定蔬菜中4种氨基甲酸酯类农药及其代谢物残留

马合勤, 岑嘉茵

(佛山市顺德区农业综合技术中心, 广东佛山 528333)

摘要:建立蔬菜中氨基甲酸酯类农药残留的超高效液相色谱-串联质谱检测方法。样品经乙腈提取, Agilent Bond Elut QuEChERS小柱净化。质量浓度为0.025~0.80 $\mu\text{g/mL}$ 时, 4种氨基甲酸酯类农药及其代谢物线性关系良好, 相关系数为0.997 4~0.999 8。在添加质量分数为0.02~0.20 mg/kg时, 方法回收率为84.0%~109.9%, 相对标准偏差为0.2%~12.4%, 最低检测质量分数为0.003 mg/kg。该方法操作简单, 准确度高, 满足蔬菜中多种氨基甲酸酯类农药残留量的测定要求。

关键词:氨基甲酸酯类农药; 超高效液相色谱-串联质谱; 蔬菜; 残留; 测定

中图分类号: TQ 450.2⁺63 文献标志码: A doi: 10.3969/j.issn.1671-5284.2019.01.009

Determination of Four Kinds of Carbamate Pesticides and Its Metabolites Residues by UPLC-MS/MS

Ma He-qin, Cen Jia-yin

(Agricultural Comprehensive Technology Center of Shunde District of Foshan City, Guangdong Foshan 528333, China)

Abstract: A method for the determination of carbamate pesticides and its metabolites residues in vegetable was developed by UPLC-MS/MS. The samples were extracted with acetonitrile, cleaned up with Agilent Bond Elut QuEChERS column. At the concentration of 0.025-0.80 $\mu\text{g/mL}$, carbamate pesticides and its metabolites had good linear relation, with the correlation coefficients of 0.997 4-0.999 8. At the spiked levels of 0.02-0.20 mg/kg, the average recoveries were 84.0%-109.9%, the relative standard deviations were 0.2%-12.4%. The method was simple, accurate.

Key words: carbamate pesticide; UPLC-MS/MS; vegetable; residue; determination

氨基甲酸酯类杀虫剂的作用机理和有机磷类杀虫剂相似, 主要通过抑制胆碱酯酶活性而致效。由于多数氨基甲酸酯类杀虫剂与胆碱酯酶的结合可逆, 且在机体内快速水解, 因此, 胆碱酯酶的活性较易恢复, 其毒性较有机磷类杀虫剂毒性低^[1-2]。

由于氨基甲酸酯类杀虫剂极性较强, 热稳定性较差, 因此, 其残留检测方法目前广泛使用的有液相色谱-荧光(HPLC-FLD)法^[3-4]、液相色谱-质谱联用(HPLC-MS)法^[5-7]、气相色谱法^[8]和气相色谱-质谱法^[9-10]等。此外, 液相色谱-飞行时间质谱(LC-TOF-MS)^[11]被用于农产品中农药多残留分析, 成为目前残留分析研究的热点。HPLC-FLD法灵敏

度高, 选择性强, 但易受基质干扰; HPLC-MS法测定氨基甲酸酯类农药残留具有定量准确, 灵敏度高, 抗干扰能力强等优点, 是目前痕量检测的首选方法。NY/T 761—2008^[4]中介绍的前处理方法试剂用量大, 耗时长, 步骤相对较多; 改进的QuEChERS方法相对简单快捷, 但成本较高^[7]。本试验探讨蔬菜中灭多威、涕灭威、克百威和甲萘威4种农药及其代谢物涕灭威砜(aldicarb sulfone)、涕灭威亚砜(aldicarb sulfoxide)、3-羟基克百威(3-hydroxy-carbofuran)的残留分析方法。样品使用乙腈提取, Agilent Bond Elut QuEChERS小柱净化, 融合了文献[4]和文献[7]前处理优点, 试剂使用量少, 成本相对较低, 操作步

收稿日期: 2018-07-19; 修回日期: 2018-11-05

作者简介: 马合勤(1976—), 女, 河南省南阳市人, 高级畜牧师, 主要从事农产品质量安全检测。E-mail: 419993174@qq.com

骤少,能快速检测蔬菜中多种氨基甲酸酯类农药,为分析确证工作提供一定的参考。

1 材料与方 法

1.1 材料与试剂

甲醇、乙腈均为色谱纯,试验用水为Milli-Q高纯水,氯化钠为分析纯,醋酸铵为优级纯,15 mL分散固相萃取净化管(安捷伦公司,5982-5656CH),内含PSA(*N*-丙基乙二胺)0.15 g、硫酸镁0.9 g;氨基甲酸酯类农药标准品(100 μg/mL),购于农业部环境质量监督检验测试中心。

1.2 仪器与设备

U3000 DGLC+TSQ Endura超高压液相色谱-串联质谱分析系统,配有电喷雾离子源(ESI);德国Retsch公司GM200型研磨机;美国Organomation公司N-EVAP 112型氮吹仪。

1.3 样品前处理

取切碎匀浆后的蔬菜样品20 g(±0.1 g),放入100 mL离心管中,加入40 mL乙腈、9 g烘干的氯化钠。涡旋30 s,盖紧离心管,用力振摇1 min,然后以4 000 r/min离心10 min。

取上层乙腈液10 mL转入分散固相萃取净化管,加入陶瓷均质子(5982-9313),4 000 r/min离心5 min。取4 mL萃取液转移至离心管中,氮气吹干。用2 mL流动相复溶,0.2 μm过滤器过滤后转移至进样瓶待测。

1.4 标样溶液配制

分别移取100 μL上述100 μg/mL标准品于10 mL容量瓶中,用乙腈定容,配制成质量浓度为1 μg/mL的氨基甲酸酯类农药及其代谢物标样储备液,避光低温保存。

移取适量体积的上述标样储备液于同一容量瓶中,用乙腈稀释成所需浓度的混合标样工作溶液,避光低温保存。

1.5 仪器条件

1.5.1 色谱条件

色谱柱:Thermo Hypersil GOLD Dim柱(100 mm×2.1 mm,1.7 μm);柱温:40℃;样品室温度:10℃;进样体积:10.0 μL;流速:0.30 mL/min;流动相:醋酸铵水溶液(5 mmol/L NH₄OAc+0.1%甲酸)、乙腈,梯度洗脱程序见表1。整个分析时长12 min。

1.5.2 质谱条件

离子源(ESI),正离子模式;毛细管电压:3.2 kV;离子源温度:110℃;锥孔气流量:75 L/h;光电倍增

器电压:650 V。定性离子对、定量离子对、碰撞电压和锥孔电压等条件参数详见表2。

表1 液相色谱梯度洗脱条件

保留时间/min	体积分数/%	
	醋酸铵水溶液	乙腈
0	75	25
1.0	75	25
6.0	5	95
8.0	5	95
8.1	75	25
12.0	75	25

表2 质谱条件及参数

化合物	母离子(m/z)	子离子(m/z)	碰撞能量/eV	锥孔电压/V
涕灭威	208.1	89.222	13.236	45
		116.222	10.253	45
涕灭威砒	240.0	148.111	13.994	80
		223.125	10.253	80
涕灭威亚砒	207.0	89.294	10.253	54
		132.125	10.253	54
克百威	222.2	123.165	20.972	103
		165.183	10.253	103
3-羟基克百威	238.1	163.111	16.118	75
		181.111	10.253	75
甲萘威	202.2	127.111	26.685	62
		145.111	10.253	62
灭多威	163.1	88.222	10.253	49
		106.222	10.253	49

2 结果与分析

2.1 方法的线性回归

使用空白样品基质溶液将标样溶液配制成质量浓度分别为0.025、0.05、0.10、0.20、0.40、0.80 μg/mL混合标样工作溶液,在上述仪器条件下进行测定。4种氨基甲酸酯类农药及其代谢物能有效分离,保留时间在6.0 min内,响应良好。当质量浓度为0.025~0.80 μg/mL时,4种氨基甲酸酯类农药及其代谢物线性关系良好,相关系数为0.997 4~0.999 8。方法的最低检测质量分数为0.003 mg/kg。线性回归试验数据见表3。

表3 方法的线性回归方程及相关系数

化合物	回归方程	相关系数(R ²)
涕灭威	$y=3.501 \times 10^4 x - 1.239 \times 10^2$	0.997 4
涕灭威砒	$y=8.468 \times 10^6 x + 1.896 \times 10^5$	0.998 7
涕灭威亚砒	$y=5.476 \times 10^5 x - 3.196 \times 10^3$	0.999 7
克百威	$y=6.362 \times 10^6 x - 3.054 \times 10^4$	0.999 8
3-羟基克百威	$y=5.393 \times 10^6 x + 8.100 \times 10^4$	0.999 5
甲萘威	$y=1.226 \times 10^6 x - 8.082 \times 10^3$	0.999 4
灭多威	$y=4.112 \times 10^6 x + 7.868 \times 10^4$	0.997 9

2.2 前处理条件的选择

文献[4]中样品经乙腈提取后,提取液蒸干,用甲醇+二氯甲烷重新定容后,使用氨基小柱分离净化,再对洗脱液吹干定容。试验过程除了经氨基小柱净化,还需要经过2次吹干定容,处理时间较长,且2次吹干易造成试验回收率偏低。本试验中试样采用乙腈提取后,经Agilent Bond Elut QuEChERS分散固相萃取管净化,简化了处理过程。试验步骤相对较少,处理时间短,使用耗材少,回收率高,净化效果好,定量、定性更准确,缩短了试验人员接触化学试剂的时间。

2.3 流动相的选择

当目标农药的加合离子峰含有 $[M+H]^+$ 、 $[M+Na]^+$ 或 $[M+NH_4]^+$ 时,向由水+乙腈组成的流动相水中加入5 mmol/L醋酸铵,各种农药加合离子峰速率迅速提高。在电喷雾离子源ESI⁺方式下,比较各种农药加合离子丰度。结果显示:涕灭威亚砷 $[M+Na]^+>[M+NH_4]^+$,涕灭威砷 $[M+H]^+>[M+Na]^+$ 、灭多威 $[M+H]^+>[M+Na]^+$ 、3-羟基克百威 $[M+H]^+>[M+NH_4]^+>[M+Na]^+$ 、涕灭威 $[M+Na]^+>[M+NH_4]^+>[M+H]^+$ 、克百威 $[M+H]^+>[M+Na]^+>[M+NH_4]^+$ 、甲萘威 $[M+NH_4]^+>[M+H]^+>[M+Na]^+$ 。

故选择乙腈+5 mmol/L醋酸铵水溶液体系为流动相,选取加合离子峰丰度较高且稳定的准分子离子峰为母离子。

与甲醇相比,以乙腈为流动相的有机相目标分析物的分离度和峰形更好,因此,流动相中的有机相选择乙腈。在上述条件下,色谱图见图1。

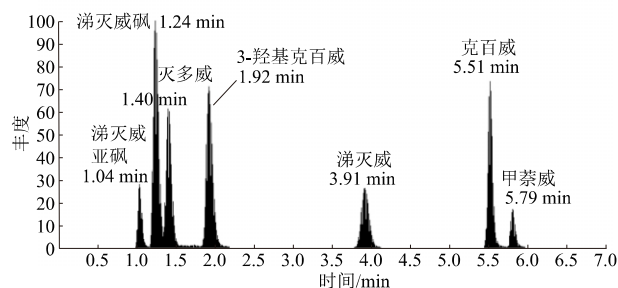


图1 氨基甲酸酯类农药液相色谱图

2.4 方法回收率及精密度试验

采用空白加标的方法进行回收率和精密度试验。分别添加混合标样溶液使样品中添加质量分数为0.02、0.04、0.20 mg/kg,每个添加水平设3个平行样品。4种氨基甲酸酯类农药及其代谢物的回收率为84.0%~109.9%,相对标准偏差为0.2%~12.4%,试验结果见表4。

表4 方法回收率和精密度结果

化合物	添加水平0.02 mg/kg		添加水平0.04 mg/kg		添加水平 0.20 mg/kg	
	回收率/%	RSD/%	回收率/%	RSD/%	回收率/%	RSD/%
涕灭威	96.2	5.4	109.9	1.6	99.8	1.8
涕灭威砷	96.4	3.3	103.0	0.4	90.4	3.2
涕灭威亚砷	100.7	2.7	99.2	3.2	87.8	2.6
克百威	92.2	3.3	109.0	1.1	85.7	0.2
3-羟基克百威	101.3	1.0	111.9	0.7	85.8	2.4
甲萘威	93.6	5.6	102.5	1.1	84.0	12.4
灭多威	96.3	4.0	108.6	1.8	91.7	3.2

3 结论

本试验建立了超高效液相色谱-串联质谱法测定蔬菜中克百威、灭多威等4种氨基甲酸酯类农药及其代谢物的残留,以乙腈+5 mmol/L醋酸铵水溶液梯度洗脱,在正离子模式下监测,最低检测质量分数为0.003 mg/kg。方法准确,选择性高,可以满足蔬菜中4种氨基甲酸酯类农药及其代谢物残留量的测定和确证。

本方法满足农药残留检测的要求,分析过程耗时短,误差小,且溶剂使用量少。

参考文献

- [1] Li F, Yuan Y Q, Meng P, et al. Probabilistic Acute Risk Assessment of Cumulative Exposure to Organophosphorus and Carbamate Pesticides from Dietary Vegetables and Fruits in Shanghai Populations [J]. Food Addit Contam: Part A, 2017, 34 (5): 819-831.
- [2] Anton K, Veronika D, Claudio C, et al. Study of High-Resolution Mass Spectrometry Technology as a Replacement for Tandem Mass Spectrometry in the Field of Quantitative Pesticide Residue Analysis [J]. Journal of AOAC International, 2012, 95 (2): 528-548.
- [3] 邵金良,黎其万,刘宏程,等. 高效液相色谱法测定蔬菜中8种氨基甲酸酯类农药及其代谢物残留量 [J]. 中国农学通报, 2015, 31 (12): 105-110.

(下转第43页)

- [J]. 植物保护, 2016, 42 (6): 105-109.
- [12] 段幼生, 彭梅, 王梅, 等. 稻田施用氯氟吡氧乙酸后其在水稻植株、糙米、稻壳、土壤和田水中的残留消解动态 [J]. 农药学报, 2010, 12 (3): 355-360.
- [13] 李恒, 杨仁斌, 盛莉莎, 等. 乙草胺在水稻环境中的残留及消解动态 [J]. 农药学报, 2009, 11 (2): 269-273.
- [14] 黄永春, 彭祎, 庞晶晶, 等. 吡蚜酮在水稻和土壤中的残留动态研究 [J]. 安全与环境学报, 2011, 11 (5): 15-18.
- [15] 占绣萍, 赵莉, 平新亮. 40%稻丰散水乳剂在水稻及稻田环境中的残留动态研究 [J]. 世界农药, 2010, 32 (4): 36-39.
- [16] 刘檀. 蔬菜和米中农药残留分析及毒死蜱在水稻田中消解动态 [D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2012.
- [17] 虞森, 梁赤周, 寿林飞, 等. 50%二嗪磷水乳剂在水稻环境中残留行为 [J]. 农药, 2016, 55 (11): 829-831; 834.
- [18] 张侃侃, 胡德禹, 张钰萍, 等. 氨基阿维菌素苯甲酸盐在水稻环境中的残留及消解动态 [J]. 农药学报, 2010, 12 (2): 190-194.
- [19] 段幼生, 王梅, 董旭, 等. 氯虫苯甲酰胺在水稻及稻田环境中的残留动态 [J]. 植物保护, 2016, 42 (1): 93-98.
- [20] 陈小军, 徐汉虹, 张志祥, 等. 灭线磷在水稻上的降解动态和残留分析 [J]. 江西农业大学学报, 2010, 32 (1): 67-72.
- [21] 宋宁慧, 王点点, 吴文铸, 等. 噻虫啉在水稻中的残留消解动态及风险评估 [J]. 环境科学学报, 2014, 34 (8): 2169-2174.
- [22] 相金, 杨俊柱, 张胜义. 噻虫嗪在水稻中的消解动态及风险评估 [J]. 安徽大学学报: 自然科学版, 2013, 37 (4): 88-92.
- [23] 黄永春, 彭祎, 庞晶晶, 等. 40%噻嗪酮悬浮剂在水稻和土壤中的残留动态研究 [J]. 安全与环境学报, 2011, 11 (1): 11-14.
- [24] 李佳, 龚道新, 刘少平. 4%杀螟丹在稻田生态环境中的降解与残留 [J]. 湖南农业科学, 2009 (11): 75-78.
- [25] 蒋波, 杨仁斌, 傅强, 等. 烯啶虫胺50%可湿性粉剂在水稻及稻田水土中的残留动态 [J]. 西南农业学报, 2012, 25 (6): 2065-2069.
- [26] 张志勇, 王冬兰, 张存政, 等. 苯醚甲环唑在水稻和稻田中的残留 [J]. 中国水稻科学, 2011, 25 (3): 339-342.
- [27] 彭小悦, 龚道新, 张欢, 等. 稻瘟酰胺在水稻中的残留及消解动态 [J]. 农药, 2010, 49 (11): 822-824.
- [28] 刘双双, 杨仁斌, 陈海平, 等. 多菌灵在水稻及土壤中的消解动态和残留规律研究 [J]. 农业环境科学学报, 2012, 31 (2): 357-361.
- [29] 郑鹭飞, 王静, 金茂俊, 等. 氟环唑30%悬浮剂在水稻中的残留动态研究 [J]. 农药科学与管理, 2015, 36 (4): 31-35.
- [30] 段幼生, 朱玉杰, 孙海滨, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法测定稻田中脂肪及其代谢物的残留 [J]. 中国农学通报, 2017, 33 (35): 57-62.
- [31] 王海萍, 杨仁斌, 余佳荣, 等. 20%高渗乙蒜素乳油在水稻植株、糙米、稻壳、稻田水及土壤中的残留检测及消解动态 [J]. 农药学报, 2008, 10 (4): 455-459.
- [32] 金水高. 中国居民营养与健康状况调查报告之十: 2002年营养与健康状况数据集 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2008.
- [33] 中国农业科学院农业质量标准与检测技术研究所. 农产品质量安全风险评估: 原理、方法与应用 [M]. 北京: 中国标准出版社, 2007.
- [34] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会, 中华人民共和国农业部, 国家食品药品监督管理局. GB 2763—2016 食品中农药最大残留限量 [S]. 北京: 中国农业出版社, 2016.
- [35] World Health Organization. Inventory of Evaluations Performed by the Joint Meeting on Pesticide Residues (JMPR) [EB/OL]. [2018-06-15]. <http://apps.who.int/pesticide-residues-jmpr-database>.
- [36] European Commission. EU Pesticides Database [EB/OL]. [2018-06-15]. <https://ec.europa.eu/food/plant/pesticides>.

(责任编辑: 陈晨)

(上接第 39 页)

- 基甲酸酯类农药残留 [J]. 现代食品科技, 2011, 27 (7): 856-860; 869.
- [4] 中华人民共和国农业部. NY/T 761—2008 蔬菜和水果中有机磷、有机氯、拟除虫菊酯和氨基甲酸酯类农药多残留的测定 [S]. 北京: 中国农业出版社, 2008.
- [5] 陈笑梅, 胡贝贞, 刘海山, 等. 高效液相色谱-串联质谱法测定粮谷中9种氨基甲酸酯类农药残留 [J]. 分析化学, 2007, 35 (1): 106-110.
- [6] 王连珠, 周昱, 黄小燕, 等. 基于QuEChERS提取方法优化的液相色谱-串联质谱法测定蔬菜中51种氨基甲酸酯类农药残留 [J]. 色谱, 2013, 31 (12): 1167-1175.
- [7] 王云凤, 刘友序, 左峰, 等. 应用QuEChERS和液相色谱-串联质谱技术检测食品中21种氨基甲酸酯类农药残留 [J]. 分析实验室, 2010, 29 (增刊): 281-284.
- [8] 屈天尧, 王德海, 吴晓波, 等. 气相色谱法快速检测粮谷中的有机磷类、有机氮类和氨基甲酸酯类农药残留 [J]. 农药科学与管理, 2009, 30 (6): 36-40.
- [9] 苏建峰, 卢声宇, 陈晶, 等. 溶剂转移-气相色谱-质谱法和选择洗脱-气相色谱法测定大蒜中289种农药多残留 [J]. 色谱, 2011, 29 (7): 643-655.
- [10] 谭阳阳, 牛墨, 田红. 固相萃取-气相色谱质谱联用法测定蔬菜和食用菌中6种氨基甲酸酯类农药残留 [J]. 检验检疫学刊, 2017, 27 (6): 10-13.
- [11] Wang J, Chow W, Leung D. Applications of LC/ESI-MS/MS and UHPLC QqTOF MS for the Determination of 148 Pesticides in Fruits and Vegetables [J]. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2010, 396 (4): 1513-1538.

(责任编辑: 顾林玲)