

液相色谱-串联质谱法测定枸杞中氨基甲酸酯类农药残留量

张艳, 王晓菁

(农业部枸杞产品质量监督检验测试中心, 宁夏 银川 750002)

摘要: 建立了同时测定枸杞中涕灭威亚砷、涕灭威砷、灭多威、3-羟基克百威、涕灭威、克百威、抗蚜威、甲萘威 8 种氨基甲酸酯类农药残留的液相色谱-串联质谱(LC-MS/MS)检测方法。枸杞样品经乙腈提取, Carbon/NH₂ 小柱净化, C18 柱分离后, 在电喷雾正离子化模式下, 于三重四极杆质谱仪上以多反应监测方式测定。结果表明: 8 种农药在 20~500 μg/L 之间线性关系良好, 且 $r \geq 0.99$; 8 种农药的方法检出限(S/N=3)为 0.01~5 μg/kg。对枸杞样品分别进行 0.02、0.05、0.1 mg/kg 3 个水平的加标回收试验, 其平均回收率分别为 77.7%~98.6%、85.0%~103.8% 和 76.8%~102.2%; 相对标准偏差分别为 2.48%~9.98%、4.14%~10.40% 和 8.33%~18.80%。该方法快速、准确、灵敏, 适合对枸杞中涕灭威亚砷等 8 种氨基甲酸酯类农药残留的同时分析。

关键词: 液相色谱-串联质谱; 农药残留; 枸杞

中图分类号: O657.63 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-3268(2011)02-0107-04

Determination of 8 Carbamate Pesticide Residues in Lycium by Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry

ZHANG Yan, WANG Xiao-jing

(Supervision and Testing Center for Lycium Quality, Ministry of Agriculture, Yinchuan 750002, China)

Abstract: A liquid chromatography-tandem mass spectrometric (LC-MS/MS) method was developed for simultaneous determination of aldicarb-sulfoxide, aldicarb-sulfone, methomyl, carbofuran-3-hydroxy, aldicarb, carbofuran, pirimicarb and carbaryl carbamates pesticides in Lycium. The sample was extracted with acetonitrile, and then cleaned up by Carbon/NH₂ cartridge. 8 pesticides were separated on a C18 column using 2 mmol/L ammonium acetate(A)-acetonitrile(B) as mobile phase in gradient elution. The analytes were detected with positive-ion electrospray ionization-mass spectrometry in MRM mode. Under the optimal conditions, the calibration curve was linear in the range of 20-500 μg/L and the detection limit(S/N=3) ranged from 0.01 to 5 μg/kg. The results showed that the mean recoveries of 8 pesticides at three spiked concentration levels of 0.02, 0.05 and 0.1 mg/kg were in the range of 77.7%-98.6%, 85.0%-103.8% and 76.8%-102.2%, respectively, with relative standard deviations (RSDs) of 2.48%-9.98%, 4.14%-10.40% and 8.33%-18.80%, respectively. The method is rapid, sensitive and reliable, suitable for analyzing carbamate pesticide residues in Lycium.

Key words: Liquid chromatography-tandem mass spectrometry; Pesticide residues; Lycium

收稿日期: 2010-12-23

基金项目: 国家科技支撑计划(2009BAI72B00)

作者简介: 张艳(1966-), 女, 山东济南人, 副研究员, 主要从事农产品质量安全检测技术研究。

E-mail: yanzh7368@sina.com

近年来,枸杞产业迅猛发展,其种植面积逐年增加,产量不断增长。由于枸杞的生长特点和生理特性,病虫害多发,农药使用较频繁且种类较多。目前,枸杞中农药残留的检测多以色谱方法为主。随着农药残留检测技术的发展,色谱-串联四极杆质谱因具有灵敏度高、线性范围宽等特点而得到广泛应用^[1-2]。由于各国农残检测项目的不断增多及限量要求的日益严格,有关液相色谱-串联质谱(LC-MS/MS)或气相色谱-串联质谱(GC-MS/MS)联用技术在多组分测定中的应用,已成为当前农残检测技术研究的热点^[3-7]。鉴此,采用高效液相色谱-串联质谱法检测枸杞中涕灭威亚砷、涕灭威砷、灭多威、3-羟基克百威、涕灭威、克百威、抗蚜威、甲萘威 8 种氨基甲酸酯类农药的残留量,研究了样品的提取、净化以及分析方法并用于实际样品的检测。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 仪器 TSQ QUANTUM ACCESS MAX 液相色谱-串联质谱仪(美国 Thermofisher 公司); PL202-1 电子天平(梅特勒公司); 旋转蒸发仪(瑞士步奇公司); TDL-40B 离心机(上海 Anke 公司); 分散机(广州 IKA 公司)。

1.1.2 试剂 涕灭威亚砷(100mg/L)、涕灭威砷(100mg/L)、灭多威(100mg/L)、3-羟基克百威(100mg/L)、涕灭威(100mg/L)、克百威(100mg/L)、抗蚜威(100mg/L)、甲萘威(100mg/L)均购自中国标准技术开发公司。上述农药标准品用甲醇配成 10mg/L 的储备液,于 -18℃ 保存,使用时根据需要以流动相配成标准工作液。

乙腈、甲苯(色谱纯,美国 Fisher 公司); 水(Milli-Q 超纯水); 氯化钠(分析纯); Carbon/NH₂ 固相萃取小柱(500mg/6mL, 美国瓦里安公司); Atlantis C18 柱(2.1mm × 100mm, 3.0μm, 美国 Waters 公司); 2mmol/L 乙酸铵溶液: 准确称取 0.154g 乙酸铵于烧杯中,加超纯水至完全溶解后转至 1L 容量瓶中,加水稀释至刻度,摇匀,用前过 0.2μm 滤膜。

1.2 试验方法

1.2.1 样品提取 称取粉碎枸杞样品 5g(精确至 0.01g)于 50mL 离心管中,加入 7.5mL 超纯水,复水 10min。再加入 25mL 乙腈,置于高速分散机中以 10000r/min 匀浆提取 2min。加入 5.0g 氯化钠于离心管中振摇 1min,以 4000r/min 离心 4min,吸取上层乙腈相 10.0mL 于 35℃ 水浴中旋转蒸发近干,用乙腈+甲苯(3:1)5.0mL 溶解。

1.2.2 提取液净化 将 Carbon/NH₂ 小柱用乙腈+甲苯(3:1)5.0mL 预淋洗,然后加入溶解的样品并用浓缩瓶接收淋出液,再用 20mL 乙腈+甲苯(3:1)洗脱样品,合并淋出液于 35℃ 水浴旋转蒸发近干,用氮吹仪吹干浓缩液,加入 2.0mL 的乙腈+水(3:2),混匀,经 0.2μm 滤膜过滤后,进行液相色谱-串联质谱测定。

1.2.3 色谱条件 色谱柱: Atlantis C18 柱(2.1mm × 100mm, 3.0μm); 柱温: 35℃; 进样量: 10μL; 流动相 A: 乙腈, 流动相 B: 2mmol/L 乙酸铵。

1.2.4 质谱条件 离子源: HESI; 离子喷雾电压: 3500V; 雾化温度: 250℃; 毛细管温度: 270℃; 鞘气压力: 30psi; 辅气压力: 10psi; 扫描方式: 多反应监测(MRM)。

2 结果与分析

2.1 样品前处理条件的选择

2.1.1 枸杞复水量的选择 乙腈是目前农药残留分析中常用的提取剂,适用于一般植物源样品中农药的提取。然而本研究中的样品枸杞,由于含糖量较高(50%~60%),乙腈对其渗透力较差,不能充分地待测农药提取出来。如果采用枸杞复水的方式,即在枸杞样品中加入一定的水,使糖溶解,再用乙腈提取,则能达到较好的提取效果。本研究通过在 5g 枸杞样品中分别加入 5.0、7.5、10.0mL 水,再加入一定量的乙腈提取,进行加标回收率试验。结果表明:加入 5.0、7.5、10.0mL 水时,8 种农药的平均回收率和相对标准偏差(RSD)值分别为 95.1%和 5.85%、99.1%和 4.77%、100.6%和 6.70%,均满足农残分析的要求。本研究以后的试验选择加水量为 7.5mL。

2.1.2 提取溶剂量的选择 提取是农药残留分析的关键环节,达到好的提取效果除了选择适宜的提取溶剂外,还要考虑提取溶剂的量。对于一定量的被测样品,确定适宜的提取溶剂体积,既可满足提取效率,又可降低成本,从而减少环境污染。本研究通过在 5g 枸杞样品中分别加入 20、25、30mL 乙腈提取,进行加标回收率试验。结果表明:20、25、30mL 乙腈提取时,8 种农药的平均回收率和 RSD 值分别为 60.2%和 17.2%、104.4%和 13.0%、103.9%和 7.90%。可见,25、30mL 乙腈提取时,农药回收率均满足农残分析的要求,以后的试验选择乙腈提取溶剂量为 25mL。

2.2 仪器条件的选择

2.2.1 色谱条件的优化 本研究采用二元梯度洗

脱,在正离子模式下向流动相中添加乙酸铵,有利于分析物预形成 $[M + NH_4]^+$ 峰,提高分析的灵敏度,同时乙酸铵有助于提高保留时间的稳定性和形成良好的峰形。通过优化流动相体系、梯度洗脱等试验条件,确定采用乙腈+乙酸铵为流动相体系,具体的梯度洗脱条件见表 1。在此条件下,所测农药组分峰形较好,灵敏度较高。本研究采用不断提高有机相比例,依次将氨基甲酸酯类农药冲出,以缩短样品检测的时间。

表 1 枸杞样品中氨基甲酸酯类农药的梯度洗脱条件

时间/min	流速/(μ L/min)	流动相 A/%	流动相 B/%
0.0	200	10	90
25.0	200	90	10
25.1	200	10	90
28.0	200	10	90

2.2.2 质谱条件的优化 本试验采用 HESI 源正离子模式,进行质谱优化。分别对 8 种农药单标进样,通过全扫描及子离子扫描模式,确定每种农药的母离子、2 个子离子及碰撞能量,具体参数见表 2,MRM 色谱图见图 1。

2.3 方法的线性范围及检出限

准确配制 8 种农药的 0、20、50、100、500 μ g/L 标准溶液。在上述仪器测定条件下进样 5 μ L 进行分析,以被测组分峰面积 y 对其质量浓度 x (μ g/L) 做工作曲线。8 种氨基甲酸酯类农药的线性回归方程及相关系数见表 3,可见均呈良好的线性关系。通过空白枸杞基质加标,并按 $S/N=3$ 确定方法检出限 (LOD)^[8]。从表 3 可以看出,8 种农药的方法检出限为 0.01~5 μ g/kg,低于国际通行最高限量规定或肯定列表一律标准(10.00 μ g/kg)。

表 2 8 种农药的监测参数

农药名称	母离子/(m/z)	子离子/(m/z)	碰撞能量/V	开始扫描时间/min	结束扫描时间/min	相对保留时间/min	扫描模式
涕灭威亚砷	224.1	89.2	18	4.00	7.00	5.55	+
		132.2	15				
涕灭威砷	240.0	86.2	22	6.50	9.00	8.00	+
		148.1	12				
涕灭威	208.1	89.1	17	14.50	17.00	16.12	+
		116.0	10				
克百威	222.0	123.1	25	17.50	20.00	19.45	+
		165.1	14				
3-羟基克百威	238.1	181.1	12	10.80	13.50	12.27	+
		220.0	10				
灭多威	163.1	88.2	10	7.00	10.00	8.89	+
		106.2	10				
甲萘威	202.0	127.1	30	19.00	22.00	20.46	+
		145.1	12				
抗蚜威	239.1	72.3	27	18.50	21.00	19.87	+
		182.1	14				

注:扫描模式中“+”表示正离子扫描

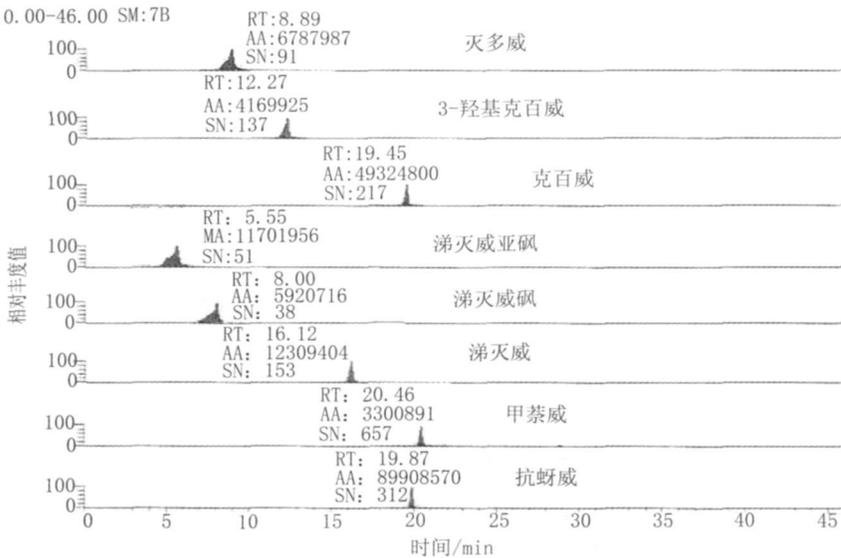


图 1 8 种农药的 MRM 色谱

表 3 8 种氨基甲酸酯类农药的线性回归方程和检出限

农药名称	线性回归方程	相关系数	检出限/(μg/kg)
涕灭威亚砷	$y=19522x+85721$	0.9997	5.00
涕灭威砷	$y=14453x-98998$	0.9997	4.00
灭多威	$y=15790x+97034$	0.9995	0.20
3-羟基克百威	$y=7272x+63265$	0.9988	3.00
涕灭威	$y=2447x+62321$	0.9998	0.04
克百威	$y=106538x+97793$	0.9996	0.01
抗蚜威	$y=208726x+2301826$	0.9992	0.02
甲萘威	$y=8521x+86359$	0.9995	0.09

2.4 方法的准确度和精密度

以不含 8 种氨基甲酸酯类农药的枸杞为本底, 分别添加不同质量浓度的待测农药标准溶液(表 4), 按照上面所述试验方法进行回收率试验, 重复测定 5 次, 回收率计算结果见表 4。0.02mg/kg 添加水平时, 8 种农药的平均回收率和 RSD 分别为 77.7% ~ 98.6%和 2.48% ~ 9.98%; 0.05 mg/kg 添加水平时, 8 种农药的平均回收率和 RSD 分别为 85.0% ~ 103.8% 和 4.14% ~ 10.40%; 0.1 mg/kg 添加水平时, 8 种农药的平均回收率和 RSD 分别为 76.8% ~ 102.2% 和 8.33% ~ 18.80%。

表 4 枸杞中 8 种氨基甲酸酯类农药的回收率(n=5)

农药名称	添加量/(mg/kg)	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
涕灭威亚砷	0.02	77.2, 82.4, 73.7, 80.1, 74.9	77.7	4.64
	0.05	102.0, 84.9, 86.5, 92.9, 92.5	91.8	7.34
	0.1	84.6, 89.0, 92.4, 81.7, 100.9	89.7	8.33
涕灭威砷	0.02	87.4, 87.9, 89.5, 83.9, 81.8	86.1	3.66
	0.05	91.9, 93.4, 95.0, 90.1, 100.3	94.1	4.14
	0.1	93.4, 98.7, 84.0, 113.4, 90.5	96.0	11.50
灭多威	0.02	103.5, 90.0, 99.0, 100.7, 99.9	98.6	5.18
	0.05	100.5, 106.8, 104.0, 96.8, 110.9	103.8	5.26
	0.1	98.9, 110.9, 91.2, 115.4, 94.7	102.2	10.20
3-羟基克百威	0.02	95.1, 99.1, 89.3, 90.3, 83.7	91.5	6.42
	0.05	94.1, 97.5, 107.6, 97.0, 110.4	101.3	7.11
	0.1	101.4, 99.9, 74.1, 82.5, 120.4	95.7	18.80
涕灭威	0.02	90.0, 88.3, 88.9, 89.7, 94.0	90.2	2.48
	0.05	89.9, 99.4, 106.0, 97.4, 106.2	99.8	6.78
	0.1	82.1, 92.3, 83.4, 116.5, 78.4	90.5	17.00
克百威	0.02	79.9, 77.2, 86.1, 79.1, 74.8	79.4	5.31
	0.05	79.1, 96.6, 98.2, 97.3, 101.6	94.6	9.36
	0.1	83.3, 82.9, 79.6, 103.4, 70.7	84.0	14.30
抗蚜威	0.02	94.1, 100.9, 94.4, 100.4, 95.1	97.0	3.48
	0.05	79.0, 79.3, 87.3, 79.7, 99.5	85.0	10.40
	0.1	69.6, 72.3, 70.0, 91.7, 80.6	76.8	12.30
甲萘威	0.02	85.1, 82.6, 102.8, 100.6, 88.7	92.0	9.98
	0.05	91.6, 103.2, 112.9, 98.9, 106.7	102.7	7.82
	0.1	84.9, 87.7, 77.6, 93.8, 76.6	84.1	8.54

3 结论

本研究建立了枸杞中 8 种氨基甲酸酯类农药残留量的液相色谱-串联质谱检测方法。采用乙腈提取, Carbon/NH2 固相萃取小柱净化, 消除了枸杞中色素及脂类物质的干扰, 再应用 Atlantis C18 柱进行色谱分离, 以 HESI 源在正离子模式下进行多反应监测, 实现了对农药更快速、灵敏的测定。该检测方法快速、灵敏、可靠。

参考文献:

[1] Schuhmacher R, Sulyok M, Krska R. Recent developments in the application of liquid chromatography-tandem mass spectrometry for the determination of organic residues and contaminants[J]. Anal Bioanal Chem, 2008, 390(1): 253-256.
 [2] Pico Y, Blasco C, Font G. Environmental and food applications

of LC-tandem mass spectrometry in pesticide residue analysis: An overview[J]. Mass Spectrom Rev, 2004, 23(1): 45-85.
 [3] 曹赵云, 牟仁祥, 应兴华, 等. 液相色谱-串联质谱法测定蔬菜、水果中 80 种农药残留[J]. 分析测试学报, 2010, 29(10): 1030-1035.
 [4] 张云, 李耀平, 李敏新, 等. 液相色谱-串联质谱法测定水产品中 7 种有机磷类农药残留物[J]. 分析实验室, 2009, 28(增刊): 191-194.
 [5] 胡小钟, 储晓刚, 余建新, 等. 气相色谱-质谱法快速筛选测定浓缩苹果汁中 105 种农药残留量[J]. 分析测试学报, 2003, 22(6): 26-31.
 [6] 蒋施, 赵颖, 郭隽, 等. 蔬菜和食用菌 11 种氨基甲酸酯农药的 UPLC-MS/MS 确证方法研究[J]. 分析实验室, 2009, 28(12): 96-101.
 [7] 夏潇潇, 潘见, 吴泽宇. 超声波萃取-高效液相色谱-串联质谱快速检测叶菜中残留农药[J]. 合肥工业大学学报: 自然科学版, 2009, 32(2): 198-201.
 [8] 李本昌, 高晓辉, 吴玉环. 农药残留量实用检测方法手册(第一卷)[M]. 北京: 中国农业科技出版社, 1995: 13-15.