

# 液相色谱串联质谱测定蔬菜和食用菌中 19种氨基甲酸酯类农药残留

蒋施, 潘伟, 赵颖, 钟钰, 金雁, 刘瑜, 姚家彪

(沈阳出入境检验检疫局, 沈阳 110016)

摘要: 建立了蔬菜和食用菌中多种氨基甲酸酯类农药残留的液相色谱串联质谱(UPLC-MS/MS)测定方法。以丙酮和乙腈混合溶液提取, GPC法净化, 经快速浓缩仪浓缩后UPLC-MS/MS同时测定。相应回收率为70.1%~95.7%, RSD为2.03%~13.34%, 最低检出限为0.01 mg/kg。

关键词: 氨基甲酸酯; 凝胶渗透色谱; 液相色谱串联质谱; 蔬菜; 食用菌

中图分类号: TQ450.2 文献标志码: A 文章编号: 1006-0413(2010)08-0587-03

## Multi Residue Determination Study of 19 Carbamates Pesticide in Vegetable and Edible Mushrooms by UPLC-MS/MS

JIANG Shi, PAN Wei, ZHAO Ying, ZHONG Yu, JIN Yan, LIU Yu, YAO Jia-biao

(Shenyang Entry-exit Inspection and Quarantine Bureau, Shenyang 110016, China)

Abstract: One method of simultaneity determining carbamates pesticides in vegetable and edible mushrooms by UPLC-MS/MS was developed. The method was developed through that the sample was extracted with the mixed solvent of acetonitrile and acetone, and cleaned by passing through GPC and determined by UPLC-MS/MS. The corresponding recoveries were 70.1-95.7% and RSD were 2.03-13.34% and the limit of determination (LOD) was 0.01 mg/kg.

Key words: carbamates; gel permeation chromatography; UPLC-MS/MS; vegetable; edible mushrooms

目前, 国内外对氨基甲酸酯类农药(carbamates, NMCs)残留的要求日趋严格, 蔬菜和食用菌中最低为0.01 mg/kg。在此类农药的多残留分析中, 最常采用的提取溶剂有乙腈<sup>[1-6]</sup>、丙酮<sup>[7-9]</sup>、乙酸乙酯<sup>[10-13]</sup>及乙腈-丙酮混合溶液<sup>[14]</sup>等。样品净化有GPC净化<sup>[6-7]</sup>、SPE净化<sup>[2]</sup>及传统的液-液分配<sup>[15]</sup>和柱层析法<sup>[16]</sup>。GPC净化具有结果重现性好的优点, 为提高工作效率, 节省人力, 目前越来越多的检测机构选择采用GPC净化等新型净化方式取代传统的液-液分配和柱层析法。本研究选择8种有代表性的蔬菜和食用菌类产品为研究基质, 根据农药性质, 优化了提取条件和净化方法, 建立了以丙酮和乙腈混合溶液为提取溶液、GPC法净化、UPLC-MS/MS为检测方法、同位素稀释法定量的一系列样品处理及测定方法, 方法简便、快速, 净化效果很好, 各项技术指标均满足残留检测的要求。

### 1 实验部分

#### 1.1 仪器和试剂

超高压液相色谱串联质谱仪: 美国Waters公司Acquity UPLC Quattro Premier XE; 快速浓缩干燥系统: 美国LABCONCO公司; 凝胶渗透色谱仪: 美国J2 Scientific公司AccuPrepMPS。

标准品(19种)纯度均>99%, 标准品介质均为甲醇, 质量浓度均为10 mg/L, 由农业部环境保护科研监所研制。

收稿日期: 2010-02-26 修返日期: 2010-04-22

基金项目: “十一·五”国家科技支撑计划课题“农药与兽药残留确证检测技术研究”分课题(2006BAK02A08-005)

作者简介: 蒋施(1978—), 女, 博士, 工程师, 从事农兽药残留研究。E-mail: jiangshi@lnciq.gov.cn。

环己烷、乙酸乙酯、二氯甲烷、丙酮均为分析纯(重蒸馏), 国药集团化学试剂有限公司; 乙腈、氯化钠(分析纯), 无水硫酸钠(分析纯, 640 下烘干4 h), 甲醇(色谱纯), 购自DIMA公司。

#### 1.2 实验方法

##### 1.2.1 样品前处理

称取20.0 g经植物粉碎机粉碎好的样品于100 mL锥形瓶中, 加入蒸馏水10 mL, 用氨水调pH值9.0~10.0, 加入标准品, 再加入40 mL的丙酮-乙腈(体积比85:15)超声提取30 min, 将上层清液经漏斗过滤于快速浓干瓶中, 再向装有样品的锥形瓶中加入40 mL的丙酮-乙腈(体积比85:15), 超声提取10 min, 将上层清液同法过滤于同一快速浓干瓶中, 快速浓干至无有机溶剂, 将快速浓干瓶中剩余液体倒入分液漏斗中, 加入50 mL 50 g/L氯化钠水溶液、25 mL二氯甲烷, 充分振荡后静置分层, 将下层溶液经装有无水硫酸钠的漏斗过滤至对应的快速浓干瓶中, 再分别向分液漏斗加入2次20、15 mL二氯甲烷充分振荡后静置分层, 同上法过滤至同一快速浓干瓶中, 再用15 mL二氯甲烷洗涤无水硫酸钠过滤至同一快速浓干瓶中, 蒸发至干。用10 mL GPC流动相(乙酸乙酯-环己烷体积比1:1)溶解残渣, 通过GPC净化, 流速为4.7 mL/min, 收集10~30 min流出液, 经快速浓缩仪浓干, 用1.0 mL甲醇-水(体积比4:6)混合溶

液溶解残渣,过0.2 μm滤膜,上UPLC-MS/MS测定。

### 1.2.2 仪器分析条件

1) 色谱条件 色谱柱: Waters C<sub>18</sub>柱(100 mm × 2.1 mm i.d., 1.7 μm); 柱温: 40 °C; 样品室温度: 室温; 进样体积: 10 μL; 流速: 0.2 mL/min; 流动相: 甲醇(A)和0.2%甲酸水溶液(B); 梯度洗脱。梯度洗脱程序见表1。

表1 19种氨基甲酸酯类农药梯度洗脱条件

时间/min	流动相A/%	流动相B/%
0	10	90
15	60	40
16	10	90
18	10	90

2) 质谱条件 电离方式: ESI<sup>+</sup>; 电离电压: 3.8 kV; 锥孔电压: 30 V; 离子源温度: 100 °C; 锥孔反吹气流量: 85 L/h; 脱溶剂气温度: 300 °C; 脱溶剂气流量: 400 L/h。监测模式: 采用MRM模式。各农药的检测离子见表2。

表2 19种氨基甲酸酯类农药的检测离子及碰撞能量的优化结果

农药名称	母离子	子离子(电离电压/eV)	
苯胺灵	179.93	137.7 <sup>(1)</sup> (10)	119.7(16)
猛杀威	207.93	150.7 <sup>(1)</sup> (9)	108.6(15)
杀螟丹	149.78	104.5 <sup>(1)</sup> (16)	60.7(23)
灭多威	162.77	87.6 <sup>(1)</sup> (10)	105.6(10)
速灭威	165.83	108.6 <sup>(1)</sup> (10)	93.5(27)
禾草敌	202.05	144.8 <sup>(1)</sup> (10)	126.8(26)
甲萘威	187.88	125.7 <sup>(1)</sup> (13)	54.8(23)
仲丁威	207.93	94.7 <sup>(1)</sup> (15)	151.5(8)
涕灭威	212.90	88.6 <sup>(1)</sup> (15)	115.7(11)
噁虫威	223.82	166.7 <sup>(1)</sup> (9)	108.6(18)
杀线威	241.77	71.7 <sup>(1)</sup> (18)	120.6(13)
异丙威	193.96	94.6 <sup>(1)</sup> (14)	136.7(9)
残杀威	209.95	110.6 <sup>(1)</sup> (15)	167.6(8)
氯苯胺灵	213.82	171.6 <sup>(1)</sup> (17)	153.6(10)
克百威	221.87	164.7 <sup>(1)</sup> (12)	122.7(22)
甲硫威	225.98	168.8 <sup>(1)</sup> (10)	120.9(19)
抗蚜威	239.02	71.9 <sup>(1)</sup> (20)	181.9(15)
乙霉威	267.82	225.8 <sup>(1)</sup> (11)	123.6(32)
硫双威	354.88	87.8 <sup>(1)</sup> (17)	107.7(16)

注: 1) 为定量用离子。

## 2 结果与讨论

### 2.1 基质的选择

根据美国食品药品监督管理局FDA的农药分析手册第1卷第3版Pesticide Analytical Manual Vol. I(简称PAM)按照水分、糖分含量选择并确定了8种比较有代表性的蔬菜和食用菌产品: 菠菜、黄瓜、大葱、蘑菇、香菇、木耳、盐渍牛肝菌和胡萝卜为研究基质。

### 2.2 氨基甲酸酯类农药的选择

根据文献资料、农药手册等工具书,检索目前氨基甲酸酯类农药中较为常见的,选择蔬菜或食用菌类农作物的

生产中常用的杀虫剂、除草剂,并尽量兼顾其各结构分类;最后确定氨基甲酸酯类农药19种。其中: 苯基氨基甲酸酯类: 异丙威、甲硫威、猛杀威、速灭威、仲丁威、乙霉威; 杂环甲基氨基甲酸酯类: 克百威、噁虫威; 杂环二甲基氨基甲酸酯类: 抗蚜威; 其他类: 杀螟丹、禾草敌。

### 2.3 样品提取方法优化

分别考察了振荡、超声等提取方式对回收率的影响,确定超声提取方式提取效率高。分别考察了丙酮、乙腈、乙酸乙酯3种提取溶剂对回收率的影响,发现丙酮和乙腈作为提取液的回收率普遍高于乙酸乙酯作为提取液,所以初步选定丙酮和乙腈作为提取液。考虑到需要检测的农药较多,不同的农药在不同提取液中的提取效果有一定的差异,为兼顾不同农药的提取回收率,采用混合溶液进行提取。考察不同溶剂比率对回收率的影响,得出丙酮-乙腈混合溶液的体积比为85:15时,农药的回收率最大。在提取液用量和提取时间的条件优化中,对比了提取液用量分别为20、40、60 mL丙酮-乙腈(体积比85:15),超声提取时间20~40 min的回收率,发现提取液为40 mL,提取时间为30 min效果最佳。由于氨基甲酸酯类农药特殊结构的性质,碱性条件会有利于其稳定性和提取效率,因此考察了pH值为6~7、9~10、13~14对回收率的影响,得出当pH值为9~14时提取效果较好,回收率较高。

### 2.4 GPC(gel permeation chromatography)净化条件的选择

根据分子质量的大小选择部分氨基甲酸酯类农药,将10 mg/L农药标准品10 mL吹干后,用10 mL GPC流动相(乙酸乙酯-环己烷体积比1:1)复溶,过GPC后分不同时间段收集,考察回收率,结果见图1。

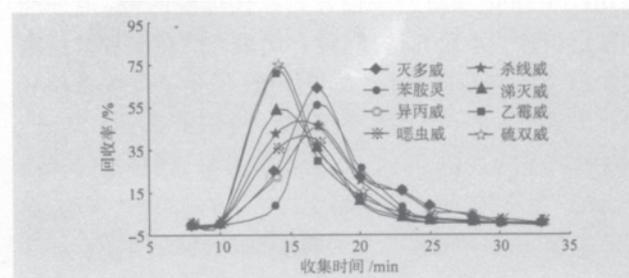


图1 GPC洗脱曲线

由结果可知: 大部分待测农药的流出时间集中在10~30 min,且空白基质样品的大部分干扰物在10 min之前基本流出,因此,确定收集时间为10~30 min。

### 2.5 线性关系及检出限

分别配制6个不同质量浓度梯度的混合标准溶液,以标准溶液中被测组分峰面积和内标物(D<sub>6</sub>-抗蚜威)峰面积的比值为纵坐标,标准溶液中被测组分质量浓度与内标物质量浓度的比值为横坐标绘制标准工作曲线,回归方程、相关系数见表3。19种农药在各种蔬菜和食用菌样品中的最低检

出限均可达到0.01 mg/kg,满足各国限量要求。

表3 19种氨基甲酸酯类农药的线性回归方程

农药名称	线性回归方程(y=)	相关系数(r)
苯胺灵	0.3962x+0.03884	0.9993
猛杀威	0.5768x+0.1814	0.9994
杀螟丹	0.0781x+0.0082	0.9997
灭多威	0.2669x+0.0543	0.9966
速灭威	0.00222x	0.9999
禾草敌	0.4482x+0.0693	0.9992
甲萘威	0.4239x+0.0749	0.9962
仲丁威	0.5997x+0.2150	0.9995
涕灭威	0.0089x+0.0017	0.9987
噁虫威	0.3428x+0.0783	0.9998
杀线威	0.0082x+0.0007	0.9978
异丙威	0.7097x+0.2283	0.9977
残杀威	0.5348x+0.1447	0.9984
氯苯胺灵	0.2393x+0.0222	0.9957
克百威	0.7570x+0.2667	0.9963
甲硫威	0.5981x+0.1450	0.9963
抗蚜威	0.6411x+0.2123	0.9987
乙霉威	0.5147x+0.1025	0.9985
硫双威	0.3708x+0.0450	0.9954

## 2.6 加标回收率

分别称取黄瓜、菠菜、胡萝卜、大葱、香菇、蘑菇、木耳、盐渍牛肝菌样品20.0 g,分别加入0.1 mg/L 19种氨基甲酸酯标准品混标2.0 mL,按照2.1样品前处理过程操作,用凝胶渗透色谱净化样品,得到的8种样品的19种氨基甲酸酯类农药的加标回收率为70.1%~95.7%,相对标准偏差为2.03%~13.34%,大多数农药都能得到较理想的回收率,该方法符合检测方法对精密度的要求。以黄瓜为例,见图2。

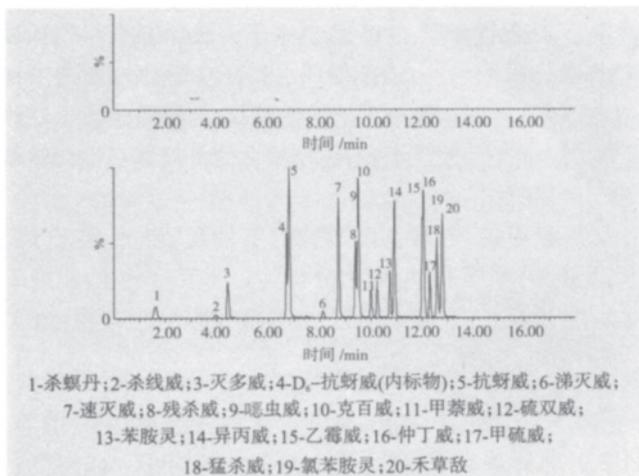


图2 黄瓜样品空白及添加回收色谱图

## 2.7 实测样品数据

从市场上购置菠菜、胡萝卜、大葱、木耳、香菇等蔬菜类进行检测,分别在菠菜中检出仲丁威0.01 mg/kg、乙霉威0.01 mg/kg,在胡萝卜中检出乙霉威0.01 mg/kg,而在食用菌中未检出氨基甲酸酯类农药。

## 3 结论

本研究采用凝胶渗透色谱法净化蔬菜及菌类样品,处

理后样品去除色素及大分子化合物的干扰,实验结果表明:本方法具有净化效果好、检测限低、操作简单、实用等特点,易于掌握和推广,可用于速冻蔬菜、菌类中的19种氨基甲酸酯类农药残留量的同时测定,具有广泛的应用前景。

## 参考文献:

- [1] NUNES G S, RIBEIRO M L, POLESE L. Comparison of Different Clean-up Procedures for the Determination of *N*-Methylcarbamate Insecticides in Vegetable Matrices by Highperformance Liquid Chromatography with UV Detection[J]. *J Chromatogr A*, 1998, 795: 43-51.
- [2] 陈晓红, 李小平, 金米聪. 蔬菜中氨基甲酸酯类农药残留的HPLC/MS测定研究[J]. *中国卫生检验杂志*, 2006, 16(9): 1041-1042.
- [3] 徐远金, 李永库. 中药材中氨基甲酸酯类农药的高效液相色谱-质谱分析[J]. *理化检验-化学分册*, 2006, 42(11): 877-880.
- [4] IMMA F E, MICHAEL T. Multi-residue Method for the Analysis of 101 Pesticides and Their Degradates in Food and Water Samples by Liquid Chromatography/Time-of-flight Mass Spectrometry[J]. *J Chromatogr A*, 2007, 1175: 24-37.
- [5] CARLA S, BRETT H, AMBROSE F, et al. Optimization of LC-MS/MS Using Triple Quadrupole Mass Analyzer for the Simultaneous Analysis of Carbosulfan and Its Main Metabolites in Oranges[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2006, 571: 1-11.
- [6] 蒋定国, 杨大进, 王竹天, 等. 茶叶中34种有机磷和氨基甲酸酯农药多残留的测定[J]. *中国卫生工程学*, 2007, 6(3): 157-159.
- [7] 王明泰, 牟峻, 吴剑, 等. 蔬菜及水果中77种有机磷和氨基甲酸酯农药残留量检测技术研究[J]. *食品科学*, 2007, 28(3): 247-253.
- [8] 丁涛, 徐锦忠, 沈崇钰, 等. 高效液相色谱-柱后衍生和质谱联用测定大米中氨基甲酸酯类农药残留量[J]. *分析试验室*, 2007, 26(9): 77-80.
- [9] 文君, 孙成均, 缪红. 高效液相色谱法同时测定蔬菜中5种氨基甲酸酯类农药[J]. *中国卫生检验杂志*, 2007, 17(6): 964-965.
- [10] JANSSON C, PIHLSTRÖM T, ÖSTERDAHL B, et al. A New Multi-residue Method for Analysis of Pesticide Residues in Fruit and Vegetables Using Liquid Chromatography with Tandem Mass Spectrometric Detection[J]. *J Chromatogr A*, 2004, 1023: 93-104.
- [11] BLASCO C, FONT G, PICÓ Y. Analysis of Pesticides in Fruits by Pressurized Liquid Extraction and Liquid Chromatography-ion Trap-triple Stage Mass Spectrometry[J]. *J Chromatogr A*, 2005, 1098: 37-43.
- [12] GOTO T, ITO Y, YAMADA S, et al. The High Throughput Analysis of *N*-Methyl Carbamate Pesticides in Fruits and Vegetables by Liquid Chromatography Electrospray Ionization Tandem Mass Spectrometry Using a Short Column[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2006, 555: 225-232.
- [13] ORTELLI D, EDDER P, CORVI C. Multiresidue Analysis of 74 Pesticides in Fruits and Vegetables by Liquid Chromatography-Electrospray-Tandem Mass Spectrometry[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2004, 520: 33-45.
- [14] 万益群, 李申杰, 付贵琴. 中草药中有机磷及氨基甲酸酯类农药残留的测定[J]. *分析试验室*, 2007, 26(6): 81-84.
- [15] 甘凤娟, 陈砚朦, 李月欢, 等. 高效液相色谱-柱后衍生荧光法检测氨基甲酸酯类农药残留量[J]. *中国卫生检验杂志*, 2005, 15(12): 1460-1461.
- [16] 张伟国, 陶传江, 李重九. GC/MS/AMDIS技术用于韭菜中残留农药的确认[J]. *质谱学报*, 2004, 25(3): 141-144.