

# 超高效液相色谱-串联质谱检测蔬菜中氨基甲酸酯类农药残留

张海霞<sup>1</sup>, 陈青奇<sup>2</sup>, 徐晶<sup>1</sup>, 杨静<sup>1</sup>

(1. 哈尔滨市农产品质量安全检验检测中心, 黑龙江 哈尔滨 150070; 2. 哈尔滨市农业科学院, 黑龙江 哈尔滨 150070)

**摘要:**以番茄、茄子、西葫芦、大白菜、甘蓝为试材, 采用超高效液相色谱-串联质谱(UPLC-MS/MS)技术建立了蔬菜中 12 种氨基甲酸酯类农药残留的检测方法。结果表明: 样品经乙腈提取, 氨基固相萃取小柱净化, 以 waters BEH T3 色谱柱分离, 采用多反应检测模式对试材进行检测, 外标法定量; 在质量浓度 1~100  $\mu\text{g/L}$  范围内呈良好线性, 相关系数均大于 0.99。在空白基质中添加 3 个水平加标试验, 回收率为 65.2%~119.2%, 相对标准偏差均小于 5%。该方法灵敏度高、准确可靠、精密度好、选择性强, 可以满足蔬菜中氨基甲酸酯类农药残留检测的要求。

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

**中图分类号:**S 481 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2014)06-0125-04

氨基甲酸酯类农药是继有机氯和有机磷农药后出现的新类别农药, 自 20 世纪 70 年代以来, 由于有机氯农药逐渐被限制使用, 以及对有机磷农药产生耐受性的昆虫品种逐渐增多, 氨基甲酸酯类农药的用量逐年增加, 这就使得蔬菜中氨基甲酸酯类农药残留情况越来越受到关注<sup>[1]</sup>。人们对其在蔬菜、水果的残留及环境的危害越来越重视, 在对果蔬进行例行监测时, 常检出氨基甲酸酯类农药, 有的甚至超标。许多国家和地区对这种农药在食品中的残留量都制定了严格的限量标准<sup>[2]</sup>。有研究报道, 对这类农药检测一般是采用液相色谱柱后衍生法<sup>[3]</sup>、气相色谱法<sup>[4]</sup>、气相色谱质谱法<sup>[5-6]</sup>等, 但这些方法存在选择性差、灵敏度低、前处理繁琐等缺点, 而液相色谱-串联质谱法(LC-MS/MS)具有高灵敏度、选择性强、检测结果无需再验证等优点。该试验采用超高速液相色谱-串联质谱法对蔬菜中的 14 种氨基甲酸酯类农药进行检测, 以期检测蔬菜中氨基甲酸酯类农药提供新技术。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

供试蔬菜分别为番茄、茄子、西葫芦、大白菜、甘蓝。

**第一作者简介:**张海霞(1980-), 女, 硕士研究生, 研究方向为农药与渔药残留检测。E-mail: zhanhaixianj@163.com.

**收稿日期:**2013-11-11

Waters Acquity UPLC-TQD 超高效液相色谱-串联四级杆质谱联用仪(美国 Waters 公司), 配有电喷雾离子源; Milli-Q 高纯水发生器(美国 Millipore 公司); 高速组织匀质机(IKA); 高速离心机(Sigma); 涡旋振荡器(IKA); 氮吹仪(美国 Organomation); 电子天平(感量 0.0001 g); 震荡器(上海一恒科技有限公司); Agilent 氨基固相萃取小柱; 乙腈、氯化钠均为优级纯(科密欧); 甲醇为色谱纯(美国 Fisher 公司); 试验用水由 Milli-Q 系统制得。

供试农药分别为涕灭威(Aldicarb)、涕灭威砜(Aldicarb-sulfone)、涕灭威亚砜(Aldicarb-sulfoxide)、克百威(Carbofuran)、三羟基克百威(3-Hydroxycarbofuran)、残杀威(propoxur)、速灭威(Carbamic acid)、抗蚜威(Pirimicarb)、甲萘威(Carbaryl)、灭多威(Methomyl)、仲丁威(Fenobucarb)、异丙威(Isoprocarb)均购自农业部环境保护科研检测所。

### 1.2 试验方法

**1.2.1 样品前处理** 提取: 称取搅碎的样品 10 g(精确到 0.01 g)置于 50 mL 离心管中, 加 20 mL 乙腈, 匀质 1~2 min, 再加入 5~7 g 氯化钠, 涡旋震荡 2 min, 5 000 r/min 离心 5 min, 取 10 mL 乙腈层于 60℃ 下氮吹近干。用 4 mL 甲醇-二氯甲烷(1:99)溶液溶解, 待净化。净化: 用 4 mL 甲醇-二氯甲烷(1:99)溶液活化氨基 SPE 小柱, 将上述待净化液全部转移上柱, 收集流出

液,用 2 mL 甲醇-二氯甲烷(1:99)溶液洗涤烧杯,过柱收集于 10 mL 刻度试管中,将收集液至于 60℃ 下氮吹近干,加 1.2 mL 甲醇溶解后用水定容至 3 mL,经 0.22  $\mu\text{m}$  滤膜过滤后上液相色谱-串联质谱仪测定,外标法定量。

1.2.2 基质效应 在分析过程中采用 5 种空白蔬菜基质配制标品,选取 0.05 mg/L 时的峰面积作为比较,按公式  $\text{ME}\% = (\text{A1} - \text{A2}) / \text{A2} \times 100\%$  计算基质效应,其中 A1、A2 分别为基质与空白溶液中目标物的峰面积。

1.2.3 色谱条件优化 试验进样 0.1 mg/L 标准品对甲醇-10 mmol/L 乙酸铵、乙腈-10 mmol/L 乙酸铵、甲醇-0.1%甲酸、乙腈-0.1%甲酸体系的流动相和不同梯度洗脱程序进行优化。

1.2.4 质谱条件 采用直接质谱进样 1.0 mg/L 的 12 种氨基甲酸酯类农药标准溶液,采用电喷雾离子源,在正、负离子模式下,进行母离子全扫描,确定其分子离子,并优化各分子离子的毛细管出口电压。再分别以上述离子作为母离子进行子离子扫描。筛选丰度较高、干扰较小的 2 个离子作为子离子,其中丰度较高的子离子作为定量离子,同时优化它们的碰撞能量。

1.2.5 方法的线性、回收率和精密度 以不含待测物的空白样品为基质液,配制成基质标准溶液,浓度分别为 2、5、10、20、50、100  $\mu\text{g/L}$ ,进行方法线性的测定。在样品中添加 20、40、100  $\mu\text{g/kg}$  3 个水平的标品,每个水平重复 6 次,按照 1.2.1 的方法进行处理,计算方法的回收率和精密度。

## 2 结果与分析

### 2.1 基质效应的判定

LC-MS/MS 中的基质效应由分析物的共流出组分影响电喷雾接口的离子化效率所致,表现为离子增强或抑制作用。蔬菜基质中存在着酚类、色素等化合物妨碍(离子抑制)或增强(离子增强)所分析目标物离子的形成而产生基质效应,在液相色谱-串联质谱定性定量分析中,基质效应影响仪器的灵敏度和重复性,是影响可靠性和准确定量的重要因素<sup>[7]</sup>。由表 1 可知,不同蔬菜样品对同一种农药的基质效果不同,因此计算时必须使用基质配制的标准曲线进行校准,尽可能的降低由于基质干扰而产生的影响。

### 2.2 流动相的选择

液相色谱-质谱联用仪中液相的分离与质谱的离子化是一对矛盾体,选择流动相时应兼顾分离效果及各分离组分进入质谱前的离子化效率,以获得最佳的分辨率和最高的灵敏度。进 0.1 mg/L 标准品,以各化合物的

表 1 5 种不同基质对 12 种氨基甲酸酯类农药的基质效应 %

农药	番茄	茄子	西葫芦	大白菜	甘蓝
涕灭威	68.38	60.41	78.76	66.55	88.66
3-羟基克百威	63.92	62.01	77.94	68.73	80.64
涕灭威亚砷	68.57	60.91	86.61	50.66	89.56
涕灭威砷	57.32	46.47	65.72	45.43	70.52
甲萘威	67.91	81.19	72.94	77.26	86.75
灭多威	71.93	64.35	83.43	69.44	90.33
残杀威	78.16	73.01	43.72	78.63	79.39
抗蚜威	100.57	98.92	86.12	101.06	91.77
仲丁威	101.31	93.09	95.93	96.69	92.88
异丙威	102.88	103.01	102.44	105.97	96.40
速灭威	98.98	99.95	101.79	107.60	97.55
克百威	74.43	75.57	48.96	75.00	81.56

定量离子的响应值为纵坐标,对 4 组流动相体系进行优化,由图 1 可知,乙腈-0.1%甲酸为流动相,除涕灭威亚砷外,其它化合物的离子响应值均高于另 3 组流动相体系的值,抗蚜威和 3-羟基克百威没有分离但由于是采用 MRM 监测方式采集,各离子通道间不存在相互干扰,所以最终选择乙腈-0.1%甲酸为流动相,流速为 0.3 mL/min,洗脱程序为 0~4 min,10%~70% A; 4.0~5.0 min,70% A; 5.0~5.1 min,70%~10% A; 5.1~7.0 min,10% A。

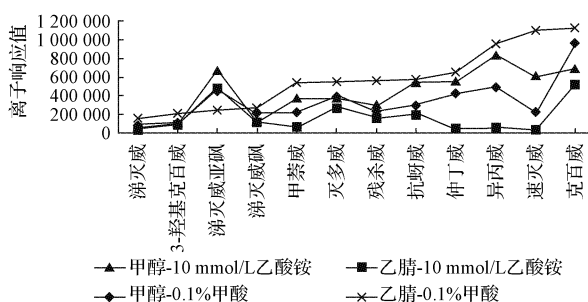


图 1 不同流动相对 12 种氨基甲酸酯类农药离子化强度的影响

### 2.3 质谱方法的优化

采用直接质谱进样农药标准溶液,对质谱条件进行优化,最终确定采用正离子扫描,多反应监测(MRM)模式,毛细管电压为 0.5 kV,离子源温度为 110℃,雾化气温度为 400℃,雾化气流速为 800 L/h,反吹气流速为 50 L/h,具体质谱参数见表 2。

### 2.4 方法的线性

以不含待测物的空白样品为基质液,配制成基质标准溶液,由表 3 可知,各化合物在 1~100  $\mu\text{g/L}$  的质量浓度范围内,线性关系良好,相关系数均大于 0.99,满足定量分析的要求。

表 2 多反应监测扫描模式(MRM)的质谱参数

农药 Compound	子离子和母离子 Qualitative ion pair /m • z <sup>-1</sup>	毛细管电压 Cone voltage /U • V <sup>-1</sup>	碰撞能量 Collision energy /E • eV <sup>-1</sup>
涕灭威 Aldicarb	212. 9/89. 0 * ,212. 9/97. 9	26	16,10
涕灭威亚砷 Aldicarb-sulfoxide	229. 0/166. 0 * ,229. 0/109. 0	22	12,18
涕灭威砷 Aldicarb-sulfone	223. 0/86. 1 * ,223. 0/147. 8	25	16,9
克百威 Carbnfuran	222. 0/165. 0 * ,222. 0/123. 0	20	12,24
3-羧基克百威 3-Hydroxycarbofuran	238. 0/181. 0 * ,238. 0/163. 0	22	12,14
残杀威 PHC	210. 3/111. 0 * ,210. 3/168. 0	18	15,7
仲丁威 Fenobucarb	208. 2/94. 8 * ,208. 2/151. 9	23	13,8
灭多威 Methomyl	162. 9/87. 9 * ,162. 9/105. 9	14	10,10
抗蚜威 Pirimicarb	239. 0/71. 9 * ,239. 0/181. 9	31	20,14
速灭威 Carbamic acid	166. 1/109. 0 * ,—	19	10,—
甲萘威 Carbaryl	202. 0/145. 0 * ,202. 0/127. 0	20	20,34
异丙威 Isoprocarb	194. 0/95. 1 * ,194. 0/135. 1	22	14,23

注:选择离子中带\* 的为定量离子。“—”表示未检测到。

2.5 回收率与精密度

由表 4 可知,12 种氨基甲酸酯类农药在不同添加水

表 4 12 种农药的加标水平、平均回收率、精密度及检出限

农药 Pesticide	加标水平 0.02 mg/kg Added lever 0.02 mg/kg		加标水平 0.04 mg/kg Added lever 0.04 mg/kg		加标水平 0.1 mg/kg Added lever 0.1 mg/kg		检出限 LOD/mg • kg <sup>-1</sup>
	平均回收率	相对标准偏差	平均回收率	相对标准偏差	平均回收率	相对标准偏差	
	Recoveries/ %	RSD/ %	Recoveries/ %	RSD/ %	Recoveries/ %	RSD/ %	
涕灭威	65. 2	3. 2	69. 3	3. 9	69. 6	2. 8	0.0002
3-羧基克百威	98. 2	4. 6	96. 3	4. 5	100. 3	4. 0	0.0011
涕灭威亚砷	98. 2	3. 2	97. 6	3. 0	93. 6	3. 6	0.0053
涕灭威砷	111. 1	3. 5	118. 2	3. 9	119. 2	2. 0	0.0031
甲萘威	98. 8	1. 6	102. 3	1. 3	110. 3	1. 2	0.0005
灭多威	89. 3	2. 5	91. 8	2. 3	108. 4	2. 1	0.0012
残杀威	80. 4	1. 2	85. 8	1. 4	86. 5	1. 4	0.0089
抗蚜威	109. 0	1. 4	105. 9	4. 1	110. 1	2. 4	0.0008
仲丁威	112. 6	1. 9	102. 7	0. 9	109. 1	2. 6	0.0059
异丙威	102. 1	2. 8	100. 3	3. 3	101. 8	4. 3	0.0005
速灭威	106. 1	3. 5	106. 6	4. 6	106. 3	3. 5	0.0056
克百威	99. 2	1. 1	101. 1	1. 9	104. 0	1. 6	0.0025

3 结论

该试验建立了蔬菜中 12 种氨基甲酸酯类农药残留的超高效液相色谱-电喷雾串联质谱分析方法。该方法的精密度、线性关系和灵敏度满足农药残留分析的要求,可作为蔬菜中 12 种氨基甲酸酯类农药残留检测定性和定量分析方法。

参考文献

[1] 李崇英,白亚之,钮松召,等. 食品中氨基甲酸酯类农药残留的分析方法[J]. 分析科学学报,2007,23(6):723-724.  
[2] 李志伟,梁丹,张建夫. 氨基甲酸酯类农药残留分析方法的研究进展

表 3 12 种氨基甲酸酯类农药的  
线性关系、相关系数

农药	线性范围/μg • L <sup>-1</sup>	线性方程	相关系数 r <sup>2</sup>
涕灭威砷	1~100	y=510. 283x+233. 643	0. 9963
灭多威	1~100	y=940. 258x+246. 528	0. 9980
涕灭威亚砷	1~100	y=111. 900x-12. 2227	0. 9981
速灭威	1~100	y=691. 471x+102. 845	0. 9996
3-羧基克百威	1~100	y=461. 151x+173. 967	0. 9980
涕灭威	1~100	y=76. 8031x-19. 7751	0. 9975
仲丁威	1~100	y=1 424. 49x+48. 7507	0. 9993
克百威	1~100	y=2 237. 37x+689. 211	0. 9969
异丙威	1~100	y=896. 470x+28. 5846	0. 9998
抗蚜威	1~100	y=6 317. 74x+760. 367	0. 9993
残杀威	1~100	y=1 188. 06x+227. 405	0. 9984
甲萘威	1~100	y=704. 5220x+68. 507	0. 9990

平下的回收率为 65. 2%~119. 2%,方法重现性 RSD 不高于 5%,各化合物的检出想低于国家限量标准要求。

[J]. 华中农业大学学报,2008,27(5):691-695.  
[3] 文君,孙成均,缪红,等. 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,2006,17(6):964.  
[4] 左海根,占春瑞. 生姜中涕灭威及涕灭威砷的 GC 分析方法研究[J]. 分析试验室,2008(27):311.  
[5] 万益群,李申杰,鄢爱平. 白术中有机磷及氨基甲酸酯类农药残留量的测定[J]. 分析科学学报,2007,23(3):299.  
[6] 万益群,陈宗保. 土壤中多种有机磷及氨基甲酸酯类农药残留量的气相色谱-质谱法测定[J]. 分析科学学报,2006,22(5):551.  
[7] 王连珠,周昱,陈泳. 果蔬中 8 种苯甲酰胺类农药残留量的液相色谱-串联质谱法测定[J]. 分析测试学报,2010(3):285-287.

# 悬钩子属植物提取物的抑菌效果及抗氧化性研究

刘胜贵, 李路, 左清清, 刘光华

(怀化学院 生命科学系, 民族药作植物资源研究与利用湖南省重点实验室, 湖南 怀化 418008)

**摘要:**以 8 种悬钩子属植物为试材, 采用药敏纸片法和二倍稀释法测定了悬钩子属植物提取物对黄色葡萄球菌、鸡沙门氏杆菌、粪肠球菌、大肠杆菌、铜绿假单胞菌的抑菌圈直径和最小杀菌浓度的影响, 利用 Fenton 反应、邻苯三酚自氧化法, 测定植物水提取物的抗氧化能力, 研究蔷薇科悬钩子属植物的抑菌效果和抗氧化性, 以评价悬钩子属植物的抗菌活性和抗氧化活性。结果表明:悬钩子属植物对金黄色葡萄球菌和大肠杆菌的抑菌效果最好, 其中山莓、插田泡和茅莓对金黄色葡萄球菌的 MBC 值达到了 37.5 mg/mL;悬钩子属植物对羟基自由基( $\cdot\text{OH}$ )和超氧阴离子自由基( $\text{O}_2^-$ )均有一定的清除能力, 其中粗叶悬钩子、茅莓和山莓的清除能力较强。表明山莓、茅莓、插田泡可以作为新的抑菌药物进行开发, 粗叶悬钩子、茅莓和山莓可作为新的抗氧化药物利用。

**关键词:**悬钩子属;植物提取物;抑菌作用;抗氧化性

**中图分类号:**S 663.2 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2014)06-0128-04

悬钩子属(*Rubus* L.)是蔷薇科(Rosaceae)中的一个属, 全世界有 750 余种, 有 210 多种, 北到大兴安岭, 南至海南, 东至台湾, 西到新疆均有分布, 长江以南及西北地区多见。在我国民间, 悬钩子属果实可以食用, 种

子、根及叶均可入药, 具有悠久的药用历史<sup>[1-2]</sup>。我国自 20 世纪 80 年代以来, 对悬钩子的研究利用引起了人们的关注, 对其果实、叶、根、茎等的活性成分进行分析, 发现悬钩子属植物含有丰富的维生素、挥发油、黄酮、萜及甾体类等活性成分。悬钩子属植物果实和根茎叶富含多酚类, 具有很强的清除自由基和抗脂质过氧化作用<sup>[2-7]</sup>。我国对于悬钩子属植物的抑菌性和抗氧化性的研究大多只局限于少数种。该试验根据怀化市悬钩子属植物分布情况, 挑选了 8 种悬钩子属植物进行抑菌试验和清除自由基试验的研究, 以期了解悬钩子属植物抑菌

**第一作者简介:**刘胜贵(1965-), 男, 湖南宁乡人, 硕士, 教授, 现主要从事药用植物栽培与药理作用等研究工作。E-mail: swlsg@163.com.

**基金项目:**湖南省教育厅科研资助项目(11C0988);湖南省重点学科建设资助项目。

**收稿日期:**2013-12-10

## The Inspection of UPLC-MS/MS for the Residue of Carbamate Pesticides in Vegetable

ZHANG Hai-xia<sup>1</sup>, CHEN Qing-qi<sup>2</sup>, XU Jing<sup>1</sup>, YANG Jing<sup>1</sup>

(1. Harbin Inspecting and Detecting Center for Agricultural Products Safety and Quality, Harbin, Heilongjiang 150070; 2. Harbin Academy of Agricultural Science, Harbin, Heilongjiang 150070)

**Abstract:** Taking tomato, eggplant, summer squash, Chinese cabbage and cabbage as materials, twelve carbamate pesticides detecting methods in vegetable was established by utilizing UPLC-MS/MS technique. The results showed that the sample was extracted by acetonitri, purified by amino column and separated by water BEH T3 column. The detecting aims were determinate in multiple reaction monitoring(MRM) mode. External standard method was used to determine the residue contents. As a result, the detecting aims were with a good linear relationship( $r^2 > 0.99$ ) in quality concentration range from 1  $\mu\text{g/L}$  to 100  $\mu\text{g/L}$ , and blank sample substrate added to three levels adding standard sample trial, the recovery ranges were from 65.2% to 119.2% with the relative standard deviations(RSDs) 5%. The method is highly sensitive and precise and selective, it can be satisfied with those detecting needs for the residue of carbamate pesticide.

**Key words:** UPLC-MS/MS; vegetable; carbamate pesticides; vestigial