

液相色谱-串联质谱法检测水果中甲维盐

刘丽丽, 刘 谦*, 周 杨, 白文静, 白 帆

(保定出入境检验检疫局, 保定 071051)

摘要: **目的** 建立液相色谱-串联质谱检测水果中甲维盐残留的方法, 并对提取溶剂、净化条件、流动相进行了优化。 **方法** 试样经乙腈提取, C₁₈固相萃取小柱净化后, 用液相色谱串联质谱测定。 **结果** 甲维盐在 1~20 µg/L 范围内线性关系良好, 相关系数大于 0.99, 在基质样品中添加 0.1、0.2、1.0 µg/kg 3 个水平药物, 其回收率在 73.9%~84.2%之间, 相对标准偏差 3.86%~7.53%, 方法检测限为 0.05 µg/kg。 **结论** 该方法可靠、稳定, 可满足水果中甲维盐残留检测与确证需要。

关键词: 液相色谱-串联质谱法; 甲维盐; 水果

Determination of emamectin in fruits by performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry

LIU Li-Li, LIU Qian*, ZHOU Yang, BAI Wen-Jing, BAI Fan

(Baoding Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Baoding 071001, China)

ABSTRACT: Objective A method for the determination of emamectin in fruits by performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry was developed, and the sample pretreatment such as extraction, cleanup and mobile phase were optimized. **Methods** The samples were extracted by acetonitrile, cleaned up by C₁₈ solid phase extraction column, and determined by performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **Results** The linear ranges were 1~20 µg/L and the correlation coefficients were all above 0.99. The recoveries of emamectin in fruits at the spiked levels of 0.1, 0.2, and 1.0 µg/kg were 73.9%~84.2%. The relative standard deviations were 3.86%~7.53%. **Conclusion** The method can meet the requirements for the determination of emamectin in fruits.

KEY WORDS: performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry; emamectin; fruits

1 引言

甲维盐(氨基阿维菌素苯甲酸盐, emamectin)属大环内酯类抗生素^[1], 是以阿维菌素 B1 为原料, 经化学结构修饰后得到的大环内酯类化合物, 致毒机制独特, 是一种新型高效、广谱、有效期长、不易产生抗药性的杀虫剂, 对线虫和节肢动物驱虫效果好, 已作为高毒农药的替代品种在我国水果、蔬菜以及

大田作物的害虫防治中得到广泛应用^[2]。但甲维盐的过量使用使其在农产品中残留较高, 害虫已产生抗药性, 各国都已限量使用。由于甲维盐属于脂溶性药物, 在动物体内的残留时间较长, 被世界卫生组织列为高毒化合物, 欧盟规定其最大残留限量为 0.01 mg/kg^[3], 我国规定的最大残留限量为 0.02~0.05 mg/kg^[4]。

目前用于甲维盐检测的方法有高效液相色谱-荧光检测/紫外检测法^[5]、免疫分析法^[6]和液相色谱串联

*通讯作者: 刘谦, 硕士, 工程师, 主要研究方向为食品中药物残留的检测。E-mail: chemliuq@163.com

*Corresponding author: LIU Qian, Master, Engineer, Baoding Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Baoding 071001, China. E-mail: chemliuq@163.com

质谱法^[7]。酶联免疫法重复性差, 成本高; 高效液相色谱法灵敏度低; 液相色谱-电喷雾电离质谱联用检测法因选择性好、定性及定量能力强, 适用于甲维盐的残留测定。近年来虽已有液相色谱串联质谱检测水果、蔬菜中甲维盐的报道, 亦有 GB/T20769-2008^[8]涵盖了甲维盐的检测, 但这些方法的前处理较为繁琐, 国标检测甲维盐的回收率低。在已有方法的基础上本文采用乙腈提取, C₁₈ 固相萃取柱净化, 液相色谱串联质谱进行检测。

2 材料与方法

2.1 仪器和试剂

2.1.1 仪器

Waters 2695 高效液相色谱仪; Waters TQD 质谱仪配电喷雾离子源(ESI); 德国 IKA-T18 匀浆机; 3-30K 离心机购自德国 Sigma 公司; EYELA N-1100 真空旋转蒸发仪购自上海比朗仪器有限公司。

2.1.2 试剂药品

乙腈、甲醇、乙酸铵(色谱纯), 无水硫酸钠(分析纯), 购自天津科密欧化学试剂有限公司; C₁₈SPE 柱(500 mg, 3 mL)购自上海安谱科学仪器有限公司, 纯净水(娃哈哈牌)。

甲维盐(新研制 农业部环境保护科研监测所制)100 μg/mL, 用甲醇配制成 10 μg/mL 的储备液和 1 μg/mL 的标准中间液, 在使用前用基质溶液配制成所需浓度。

2.1.3 实验材料

保定市及周边县食品厂送检样品。

2.2 样品处理

2.2.1 提取

称取 10 g 试样, 加到 100 mL 塑料离心管中, 加入 5 g 无水硫酸钠和 15 mL 乙腈, 以 10000 r/min 均质 2 min, 3000 r/min 下离心 5 min, 上清液经无水硫酸钠过滤并转入浓缩瓶中。用 10 mL 乙腈再提取一次, 合并提取液。将提取液于 40 °C 水浴下浓缩至近干, 5 mL 甲醇溶解残渣, 待净化。

2.2.2 净化

将上述样品提取液过 C₁₈ 固相萃取柱(先用 5 mL 甲醇活化), 自然过柱, 再用 5 mL 甲醇分两次洗瓶, 洗液一并过柱, 收集全部流出液, 40 °C 旋转蒸发至干, 迅速加入 1.0 mL 定容液(乙腈-10 mmol 乙酸铵, 6:4, v:v)混匀, 经 0.22 μm 滤膜过滤, 供液相色谱串联质

谱测定。

2.3 仪器条件

2.3.1 液相条件

色谱柱: C₁₈ 柱, 100 mm×2.1 mm, 粒度 5 μm; 流动相: 乙腈, 10 mmol/L 乙酸铵(含 0.1% 甲酸, v:v), 梯度洗脱程序见表 1; 柱温: 35 °C; 进样量: 20 μL。

表 1 液相色谱梯度洗脱程序
Table 1 Gradient elution of HPLC

时间 (min)	流速 (mL/min)	乙腈 (%)	10 mmol 乙酸铵 (0.1% 甲酸)(%)
0.00	0.3	60	40
5.00	0.3	95	5
6.00	0.3	95	5
7.00	0.3	60	40
13.00	0.3	60	40

2.3.2 质谱条件

离子源: 电喷雾离子源(ESI⁺), 毛细管电压: 3.00 kV; 锥孔电压: 35 V, 离子源温度: 120 °C; 去溶剂气温度: 450 °C; 去溶剂气流量: 500 L/h; 反吹气: 50 L/h。监测离子对(*m/z*)及去溶剂气能量见表 2 质谱参数。

表 2 质谱参数
Table 2 Parameters of MS

监测离子对(<i>m/z</i>)	锥孔电压(V)	碰撞能量(V)
886.7/158.2*	35	35
886.7/126.1	35	40

*代表定量离子

3 结果与讨论

3.1 提取溶剂的优化

甲维盐具有较高的分子质量和糖链, 属于弱极性物质, 易溶于甲苯、乙酸乙酯、丙酮、三氯甲烷、乙腈等有机溶剂。相关文献^[2]报道乙酸乙酯和乙腈均可以将甲维盐完全提取, 乙酸乙酯可以提取到更多的脂肪, 给净化带来困难, 在本方法中不选用乙酸乙酯。在 GB/T 20769-2008 中用乙腈-甲苯(3:1, v:v)对甲维盐进行提取^[8], 考虑到甲苯对环境及人体的毒性, 最终选择乙腈作为提取溶剂。

3.2 净化条件的优化

分别比较了石墨化碳氨基柱(洗脱液: 乙腈-甲苯, 3:1, v:v)、中性氧化铝(洗脱液: 乙腈)^[9]、C₁₈(洗脱液: 甲醇)、弗罗里硅土(洗脱液: 丙酮-正己烷: 10:90, v:v)和 MCX 柱(洗脱液: 乙酸乙酯-甲醇-氨水, 50:45:5, v:v:v)5 种常用固相萃取柱对水果中甲维盐的净化效果和回收率的影响(见表 3)。结果表明: 中性氧化铝柱完全吸附了甲维盐, 回收率为 0; 无论甲维盐的添加量是多少, 采用石墨化碳氨基柱洗脱下来的量在 0.4~0.65 ng/mL 之间; 弗罗里硅土和 MCX 对水果中甲维盐净化时, 目标物也会在柱上保留, 不能完全洗脱, 而用 C₁₈ 柱净化时, 既有效去除了疏水性物质的干扰, 减少了对色谱柱的污染及对质谱相应的干扰, 又提高了回收率, 回收率能达到 84%。

表 3 5 种固相萃取柱净化甲维盐的回收率(添加量为 1 μg/kg)

SPE 柱名称及型号	回收率%
石墨化碳氨基柱(2 g 6 mL)	6.5
中性氧化铝(500 mg 3 mL)	0
C ₁₈ 柱 (500 mg 3 mL)	84.0
弗罗里硅 (500 mg 3 mL)	52.2
MCX 柱 (50 mg 3 mL)	43.5

3.3 流动相的优化

实验用 C₁₈ 色谱柱进行分离, 流动相分别比较了乙腈-水、乙腈-0.1%甲酸水、乙腈-10 mmol/L 乙酸铵、乙腈-10 mmol/L 乙酸铵(含 0.1%甲酸), 结果表明: 添加乙酸铵的流动相可促进甲维盐离子化, 在乙酸铵中加入 0.1%甲酸可提高甲维盐的离子化效率, 降

低了甲维盐的检出限。

3.4 线性关系、灵敏度和精密度

在优化条件下, 选择杏、梨、白桃为代表性水果, 在 1~20 μg/L 之间线性关系良好, 相关系数大于 0.99(见表 4), 检出限为 0.05 μg/kg, 方法灵敏度完全满足检测需求。

向阴性杏、梨、白桃样品中分别添加 0.1、0.2、1.0 μg/kg 3 个水平的甲维盐, 每个水平重复 6 次, 做回收率实验, 结果见表 5。图 1~3 为加标样品中甲维盐的定性离子、定量离子和总离子流图, 图 4 为空白样品中甲维盐的定量离子图。

表 4 甲维盐线性方程及相关系数

	线性方程	相关系数	线性范围(μg/L)	检测限(μg/kg)
甲维盐	$Y=803.415X-255.856$	0.9959	1~20	0.05

表 5 3 种水果中甲维盐的回收率及相对标准偏差(n=6)
Table 5 Recoveries and RSD of emamectin in 3 kinds of fruits (n=6)

添加量(μg/kg)	样品	平均回收率(%)	相对标准偏差(RSD)%
0.1	杏	78.5	6.98
	梨	76.3	5.62
	白桃	82.3	7.53
0.2	杏	73.9	4.92
	梨	80.3	3.86
	白桃	84.2	5.34
1.0	杏	76.4	4.46
	梨	82.9	6.38
	白桃	79.6	5.96

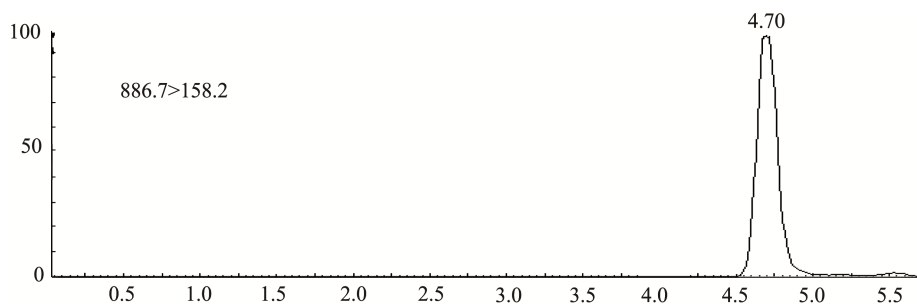


图 1 甲维盐(0.1 ng/mL)提取离子流图(定性离子对)

Fig. 1 Qualitative ion current of emamectin(0.1 ng/mL)

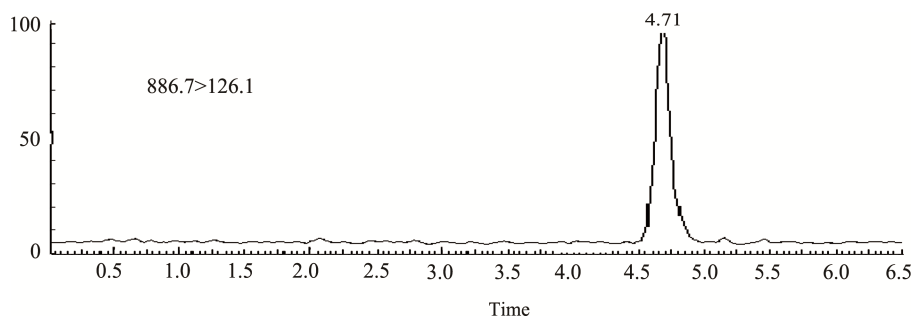


图 2 甲维盐(0.1 ng/mL)提取离子流图(定量离子对)
Fig. 2 Quantitative ion current of emamectin (0.1 ng/mL)

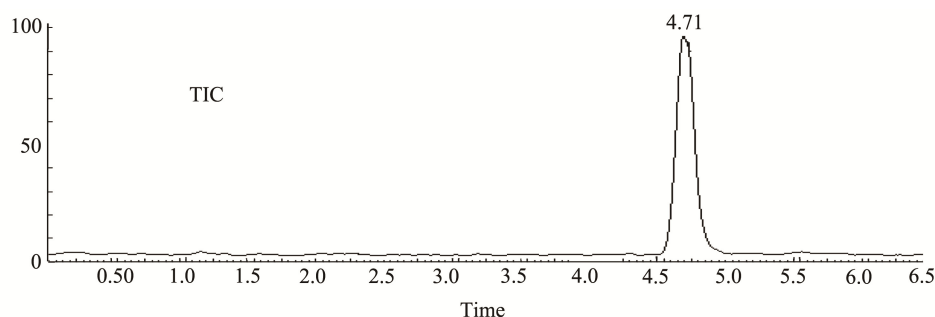


图 3 甲维盐(0.1 ng/mL)总离子流图
Fig. 3 The total ion chromatogram of emamectin(0.1 ng/mL)

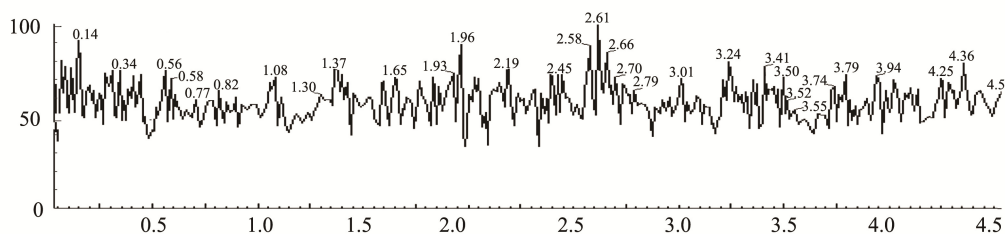


图 4 空白样品甲维盐定量离子图
Fig. 4 The quantitative ion current of emamectin in blank sample

4 结 论

本文建立了水果中甲维盐的液相色谱串联质谱法, 通过对提取溶剂、净化柱、流动相的优化, 最终确定用乙腈为提取液, C_{18} 柱为净化柱, 乙腈-10 mmol 乙酸铵(0.1%甲酸)为流动相, 灵敏度高, 线性良好, 检出限达到 $0.05 \mu\text{g}/\text{kg}$ 。和 GB/T 20769-2008^[8] 相比, 该方法选用乙腈作为提取溶剂, 既能将甲维盐从基质中完全提取又能降低对环境和实验员人体的伤害; 改用 C_{18} 固相萃取柱净化, 提高了甲维盐的回收率, 定量准确性提高; 选用乙腈-10 mmol 乙酸铵

并添加 0.1%的甲酸(v:v)作为流动相, 提高了甲维盐的离子化效率, 降低了检出限。该方法在针对水果中甲维盐的提取和净化效果上优于国标, 回收率稳定, 能够满足国内外对水果中甲维盐农药残留的限量要求, 又能用于水果中甲维盐的检测和确证。

参考文献

- [1] 吴宇宽, 赵静, 高进, 等. 高效液相色谱-串联质谱法检测蔬菜、水果中阿维菌素、甲维盐残留[J]. 湖北大学学报, 2013, 12(4): 461-464.
Wu YK, Zhao J, Gao J, *et al.* Determination of avermectin and emamectin residues in vegetables and fruits by high performance

- liquid chromatography and tandem mass spectrometry [J]. J Hubei Univ, 2013, 12(4): 461–464.
- [2] 李增梅, 赵善仓, 梁京芸, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法测定水稻田中甲氨基阿维菌素苯甲酸盐的残留量[J]. 分析测试学报, 2014, 33(1): 78–82.
- Li ZM, Zhao ZC, Liang JY, *et al.* Determination of emamectin benzoate in paddy field by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. J Instrum Anal, 2014, 33(1): 78–82.
- [3] 唐月新. 现行有效国内外食品中农兽药残留限量标准实用手册[M]. 北京: 中国科学技术出版社, 2005.
- Tang YX. Food at home and abroad in effect at the middle of veterinary drug residue limits standard and practical manual [M]. Beijing: Science and Technology of China Press, 2005.
- [4] 农业部农药鉴定所. 农药合理使用准则实用手册[M]. 北京: 中国标准出版社, 2002.
- ICAMA. Pesticide rule of rational use of practical manual[M]. Beijing: China Standard Publishing Press, 2012.
- [5] 张艳, 吴银良, 胡继业, 等. 高效液相色谱荧光检测法测定蔬菜中残留的甲氨基阿维菌素苯甲酸盐[J]. 色谱, 2008, 26(1): 110–112.
- Zhang Y, Wu YL, Hu JW, *et al.* Determination of Emamectin in vegetables by HPLC-FD[J]. Chin J Chromatogr, 2008, 26(1): 110–112.
- [6] 于娇. 食品中阿维菌素类药物酶联免疫检测方法的研究[D]. 天津: 天津科技大学, 2010.
- Yu J. Determination of avermectin residues in food by ELISA[D]. Tianjin: Tianjin University of Science and Technology, 2010.
- [7] 杨方, 杨守深, 林永辉, 等. 超高效液相色谱-串联质谱联用法检测茶叶中阿维菌素类药物残留[J]. 色谱, 2009, 27(2): 153–157.
- Yang F, Yang SS, Lin YH, *et al.* Determination of avermectin residues in tea by ultra-performance liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry[J]. Chin J Chromatogr, 2009, 27(2): 153–157.
- [8] GB/T20769-2008 水果和蔬菜中 450 农药及相关化学品残留量的测定 液相色谱-串联质谱法[S].
- GB/T20769-2008 Determination of 450 pesticides and related chemicals residues in fruits and vegetables — LC-MS-MS method[S].
- [9] SN/T1973-2007 进出口食品中阿维菌素残留量的检测方法-高效液相色谱-质谱/质谱法[S].
- SN/T1973-2007 Determination of abamectin residues in food for import and export —HPLC-MS/MS method[S].
- [10] 廖晔颖, 龚道新, 唐晶, 等. 高效液相色谱-荧光法同时检测烟田中残留的阿维菌素和甲基阿维菌素苯甲酸盐[J]. 农药, 2014, 53(4): 266–268.
- Liao YJ, Gong DX, Tang J, *et al.* Determination of Abamectin and Emamectin Benzoate in Tobacco Fields by HPLC-FD[J]. Agrochemicals, 2014, 53(4): 266–268.
- [11] 闫实. QuEChERS-LC/MS/MS 快速分析蔬菜中 7 种新农药残留研究[J]. 安徽农业科学, 2014, 42(9): 2728–2730, 2749.
- Yan S. Research of Seven kinds of Pesticides residue in Vegetables by modified QuEChERS-LC/MS/MS[J]. J Anhui Agric Sci, 2014, 42(9): 2728–2730, 2749.
- [12] 寿林飞, 张文童, 虞淼, 等. 液相色谱-串联质谱法测定植物油中阿维菌素和甲维盐残留[J]. 浙江农业科学, 2013(12): 1651–1653.
- Shou LF, Zhang WT, Yu M, *et al.* Determination of Abamectin and Emamectin Benzoate in oil by LC-MS/MS[J]. J Zhejiang Agric Sci, 2013, (12): 1651–1653.
- [13] 张娟, 汤锋, 唐俊, 等. 液相色谱荧光法测定稻谷及秸秆中阿维菌素残留量[J]. 安徽农业科学, 2009, (29): 21–22, 66.
- Zhang J, Tang F, Tang J, *et al.* Determination of Avermectin Residue in Rice Grain and Straw with the Method of HPLC Fluorescence Detection[J]. J Anhui Agric Sci, 2009, (29): 21–22, 66.
- [14] 迟志娟, 任晓萍, 徐敏清, 等. 青菜及甘蓝中甲氨基阿维菌素苯甲酸盐残留动态研究[J]. 江苏农业学报, 2009, (04): 196–200.
- Chi ZJ, Ren XP, Xu MQ, *et al.* Residual Dynamics of Emamectin Benzoate in Chinese Cabbage and Cabbage[J]. Jiangsu J Agric Sci, 2009, (04): 196–200.
- [15] 孙明娜, 万宇, 朱传明, 等. 液相色谱-荧光法测定甲氨基阿维菌素苯甲酸盐在甘蓝和土壤中的残留[J]. 安徽农业科学, 2008, (18): 43–44.
- Sun MN, Wan Y, Zhu CM, *et al.* study on residue analytical method and the degradation of Emamectin Benzoate in Cabbage and soil[J]. J Anhui Agric Sci, 2008, (18): 43–44.

(责任编辑: 赵静)

作者简介



刘丽丽, 学士, 助理工程师, 主要研究方向为食品安全检测。

E-mail: 13931697750@163.com



刘谦, 硕士, 工程师, 主要研究方向为食品中药物残留的检测。

E-mail: chemliuq@163.com