

# 超高效液相色谱质谱联用法测定蔬菜中 氨基甲酸酯农药及其代谢物研究

卢忠魁\*, 李 鲤, 刘崇琪, 宋美玲, 郎宏华

(吉林市疾病预防控制中心, 吉林 132001)

**摘要:** **目的** 建立以 QuEChERS 法进行样品前处理, 以超高效液相色谱质谱联用法分析蔬菜中氨基甲酸酯类农药的多残留检测技术, 以适应食品安全风险监测工作需要。**方法** 采用 QuEChERS 法进行样品前处理, 采用超高效液相色谱串联三重四极杆联用技术, 以 CH<sub>3</sub>CN:0.1%甲酸含 5 mmol/L 甲酸铵(每升中加入 10 mg 无水乙酸钠)为流动相, 流速 0.3 mL/min, 以 ACCUITY BEH C<sub>18</sub> (2.1 mm ×100 mm, *i.d.* 1.7 μm) 为分析柱, 柱温 35 °C, 三重四极质谱仪 ESI 源, 正离子模式, 多反应监测方式测定蔬菜中 6 种氨基甲酸酯类农药。**结果** 本方法检出限为 0.01 mg/kg, 在线性范围 2.5~200 ng/mL 内有良好线性关系, 线性相关系数(*r*)分别为: 灭多威 0.9997、涕灭威 0.9993、克百威 0.9994、涕灭威亚砷 0.9979、3-羟克百威 0.9994、涕灭威砷 0.9995, 回收率 62.3%~114.0%, 相对标准偏差 2.53%~12.0%。**结论** 本方法样品制备速度快, 操作简便, 适用于蔬菜样品中氨基甲酸酯类农药多残留检测。

**关键词:** 氨基甲酸酯农药; 代谢物; 超高效液相色谱质谱联用法; 蔬菜

## Determination of carbamate pesticides and metabolite residues in vegetables by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry

LU Zhong-Kui\*, LI Li, LIU Chong-Qi, SONG Mei-Ling, LANG Hong-Hua

(Jilin Center for Disease Control and Prevention, Jilin 132001, China)

**ABSTRACT: Objective** On the basis of QuEChERS method for the sample pretreatment, to establish a simultaneous determination method of carbamate pesticides and metabolite residues in vegetables by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, in order to meet the needs of food safety monitoring. **Methods** The samples were extracted by ultra performance liquid chromatography and triple quadrupole technique, after the pretreatment with QuEChERS method. The mobile phase was CH<sub>3</sub>CN and 0.1% formic acid containing 5 mmol/L ammonium formate (10 mg anhydrous sodium acetate per liter of solution). The flow rate was 0.3 mL/min. An Accuity BEN C<sub>18</sub> (2.1 mm ×100 mm, *i.d.* 1.7 μm) was used as the analysis column and the column temperature was 35 °C. Six kinds of carbamate pesticides and metabolite residues in vegetables were measured by the triple quadrupole mass spectrometry, which was used under the source of ESI, positive ion multiple reaction mode (MRM) and multiple reaction detection method. **Results** The detection limit was 0.01 mg/kg. The method linear range was 2.5~200 ng/mL. Excellent linearities were obtained with the correlation coefficient (*r*): methomyl 0.9997, aldicarb 0.9993, carbofuran 0.9994, aldicarb sulfoxide 0.9979,

\*通讯作者: 卢忠魁, 副主任技师, 主要研究方向为卫生理化检验。E-mail: lzk\_1973@163.com

\*Corresponding author: LU Zhong-Kui, Associate Chief Technician, Jilin Municipal Center for Disease Control and Prevention, No.41-2, Songjiang East Road, Changyi District, Jilin 132001, China. E-mail: lzk\_1973@163.com

3-hydroxycarbofuran 0.9994, and aldicarb sulfone 0.9995, respectively. The average recoveries were 62.3%~114.0% and the relative standard deviations were in the range of 2.53%~12.0%. **Conclusion** The developed method is highly efficient, easy to operate and suitable for monitoring the 6 kinds of carbamate pesticides and metabolite residues in vegetables.

**KEY WORDS:** carbamate pesticides; metabolite; ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry; vegetables

## 1 引言

农药多残留检测工作是食品安全风险监测工作中的重要部分,蔬菜中农药残留品种复杂,监测工作异常艰巨。氨基甲酸酯类农药是一类高效、广谱的杀虫剂,在农药生产中应用较为普遍,其对乙酰胆碱酯酶具有抑制作用而对农业害虫起到杀灭作用。目前氨基甲酸酯类农药测定方法主要有气相色谱法、氮磷检测器检测法<sup>[1,2]</sup>、液相色谱柱后衍生荧光法<sup>[3-5]</sup>、酶联免疫法<sup>[6]</sup>、液质联用法<sup>[7-11]</sup>。气相色谱法、液相色谱法没有足够的定性能力,酶联免疫法不适用于多种农药的检测。采用的样品制备方法有液液分配法、固相萃取法等。本研究应用 QuEChERS 法与液相色谱串联三重四极杆质谱联用技术测定 6 种氨基甲酸酯类农药及其代谢物的多残留,样品制备过程简单,适用于大量样品的快速筛查,可满足对蔬菜中氨基甲酸酯类农药及其代谢物的快速检测分析。

## 2 材料与方 法

### 2.1 仪器与试剂

沃特世超高效液相色谱串联三重四极杆质谱仪,配置 ACCUITY 在线脱气机、二元泵及梯度洗脱系统、柱温箱、TQD 三重四极杆质谱检测器(美国 Waters 公

司); MASSLYNX CN805 质谱工作站系统(美国 Waters 公司); 高速匀浆机(美国 OMNI 公司); 旋涡混合器(美国 IKA 公司)、50 mL 聚丙烯离心管、2 mL 具塞离心管、感量 0.01 g 电子天平(美国塞多利斯公司)、超纯水机(韩国 HUMAN POWER III); 离心机(美国 Sigma 公司)。

乙腈(HPLC 级,美国赛默飞世尔公司); 甲酸(HPLC 级,德国 CNW 公司); 石墨化炭黑 GCB (120~400 目 上海安谱公司); N-丙基乙二胺(PSA)(QuEChERS 专用超洁净填料 40~63 μm, 60A 上海安谱公司); 氯化钠(GR 级,北京化工厂); 甲酸铵(HPLC 级,德国 CNW 公司); 无水乙酸钠(GR 级,天津光复精细化工研究所); 有机滤膜 0.22 μm(上海安谱公司)。

氨基甲酸酯农药标准溶液: 涕灭威、涕灭威亚砷、涕灭威亚砷、克百威、3-羟基克百威、灭多威(100 μg/mL, 国家标准研究中心)。

### 2.2 实验方法

#### 2.2.1 色谱条件

流动相: CH<sub>3</sub>CN:0.1%甲酸含 5 mmol/L 甲酸铵(每升中加入 10 mg 无水乙酸钠)=5:95(V:V); 流速: 0.30 mL/min; 色谱柱: Acquity UPLC BEH C<sub>18</sub> (2.1 mm×100 mm,1.7 μm); 色谱柱温: 35 °C; 进样量: 3 μL; 梯度洗脱程序见表 1。

表 1 梯度洗脱程序  
Table 1 Gradient elution program

时间(min)	流速(mL/min)	CH <sub>3</sub> CN(%)	0.1%甲酸含 5 mmol/L 甲酸铵(每升中加入 10 mg 无水乙酸钠)(%)
0	0.30	5	95
3.0	0.30	25	75
7.0	0.30	80	20
9.0	0.30	99	1
10.0	0.30	99	1
10.5	0.30	5	95
12.0	0.30	5	95

### 2.2.2 质谱条件

离子源: 电喷雾离子源; 扫描方式, ESI<sup>+</sup>; 毛细管电压: 2.8 kV; 离子源温度: 110 °C; 脱溶剂气温度: 500 °C; 锥孔气流量: 50 L/h; 碰撞气流量: 0.15 mL/min; 脱溶剂流量: 700 L/h; 检测方式: 多反应监测(MRM)。

### 2.3 样品制备

提取: 准确称取 10.00 g 均匀样品, 加入 10 mL 乙腈, 涡旋混匀后超声提取 20 min。加入 8.0 g 无水硫酸钠和 2.0 g 氯化钠, 涡旋后, 5000 r/min 离心 5 min, 取上清液于 50 mL 离心管中。再用 10 mL 乙腈重复提取一次, 合并上层有机相。

QuEChERS 净化: 于合并的有机相中取 1 mL 乙腈提取液于 2 mL 离心管中, 加入 0.3 g 无水硫酸钠和 100 mg PSA 粉末, 加入 GCB 5 mg, 涡旋后 5000 r/min 离心 2 min。取出上清液 0.50 mL 加入 0.50 mL 0.1%甲酸:乙腈(1:1, V:V)溶液混匀, 过 0.22 μm 有机相滤膜后供 LC-MS/MS 分析。

### 2.4 标准溶液的配制

分别吸取 100 μg/mL 涕灭威亚砷、涕灭威砷、灭多威、3-羟克百威、涕灭威、克百威标准储备液 500 μg/mL 定容于 5 mL 甲醇中, 相当于每种农药 10 μg/mL。分别移取混合农药溶液适量, 以流动相稀释配制浓度为 10、20、40、60、80、100、200 ng/mL

标准曲线溶液。分别以自动进样品器进液相色谱串联质谱仪测定。

## 3 结果与讨论

### 3.1 质谱条件优化

分别以 1 μg/mL 涕灭威亚砷、涕灭威砷、灭多威、3-羟克百威、涕灭威、克百威农药标准溶液进行质谱条件优化, 确定每种农药及其代谢物质的母离子质荷比、锥孔电压、定量离子、定性离子质荷比、碰撞能量。通过优化确定质谱采集的各参数, 结果见表 2。由表 2 知本实验测定的母离子灭多威、3-羟克百威、克百威以 [M+H] 形式存在, 而涕灭威砷以 [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup> 的母离子形式存在, 涕灭威亚砷、涕灭威母离子 [M+Na]<sup>+</sup> 的形式存在。同一种物质不同形式的母离子的离子强度差异非常显著, 对灵敏度有显著影响, 与文献报告的测定条件显著不同<sup>[7,8,11]</sup>。

### 3.2 流动相的优化

分别以 CH<sub>3</sub>CN:0.1%甲酸含 5 mmol/L 甲酸铵(5:95, V:V)和 CH<sub>3</sub>CN:0.1%甲酸含 5 mmol/L 甲酸铵(每升中加入 10 mg 无水乙酸钠)(5:95, V:V)测定 6 种氨基甲酸酯农药及代谢物的分离情况。结果表明, 当以 CH<sub>3</sub>CN:0.1%甲酸水溶液(5:95, V:V)进行分离实验时, 通过优化梯度洗脱程序, 能将 6 种物质良好分离。但涕灭威亚砷和涕灭威定性离子和定量离子丰度

表 2 6 种氨基甲酸酯类农药及其代谢物监测离子对  
Table 2 Monitoring of ion pairs with 6 kinds of carbamate pesticides and metabolites

名称	分子量	母离子( <i>m/z</i> )	锥孔电压(V)	子离子( <i>m/z</i> )	碰撞能量(eV)
涕灭威亚砷	206	229	23	166*	13
				109.1	17
涕灭威砷	222	240	16	223*	8
				148	15
灭多威	162	163	12	87.9*	10
				106	11
3-羟克百威	237	238	18	181*	12
				220.1	7
涕灭威	190	213	22	88.9*	18
				116	12
克百威	221	222	22	165*	12
				122.9	23

注: 带\*为定量离子。

很低。通过调谐过程发现此两种物质母离子为[M+Na]型强度较高,而流动相中无Na存在,因此对应的丰度很弱。改变流动相组成,向流动相中加入钠盐,即以CH<sub>3</sub>CN:0.1%甲酸水溶液含5 mmol/L 甲酸铵(每升中加入10 mg 无水乙酸钠)(5:95, V:V)为起始流动相进行梯度洗脱,结果涕灭威亚砷和涕灭威定性离子和定量离子离子强度显著提高,其中涕灭威亚砷离子丰度提高约25倍,涕灭威离子丰度提高约22倍。实验最终确定以CH<sub>3</sub>CN:0.1%甲酸含5 mmol/L 甲酸铵(每升中加入10 mg 无水乙酸钠)(5:95, V:V)为起始流动相组成。

### 3.3 标准曲线及检出限

按照方法实验,6种氨基甲酸酯类农药及其代谢物的标准曲线方法及检出限见表3。

### 3.4 方法的准确度及精密度

方法的准确度和精密度试验采用向白菜、黄瓜、菠菜样品中分别加入0.03 mg/kg和0.32 mg/kg两个浓度水平的涕灭威亚砷、涕灭威砷、灭多威、3-羟克百威、涕灭威、克百威农药,按照方法进行实验,结果见表4。

表3 6种氨基甲酸酯类农药及其代谢物的标准曲线及检出限

Table 3 The standard curve and the detection limit of 6 kinds of carbamate pesticides and metabolites

农药名称	保留时间(min)	标准曲线方程	相关系数( <i>r</i> )	检出限(mg/kg)
涕灭威亚砷	2.13	$Y=312.812X-16.8051$	0.9979	0.01
涕灭威砷	2.66	$Y=510.594X-1139.740$	0.9995	0.01
灭多威	2.89	$Y=439.902X-768.659$	0.9997	0.01
3-羟克百威	3.92	$Y=178.815X-366.875$	0.9994	0.01
涕灭威	4.93	$Y=106.433X-128.423$	0.9993	0.01
克百威	5.59	$Y=1942.56X-4311.72$	0.9996	0.008

表4 准确度及精密度实验结果(*n*=6)

Table 4 Accuracy and precision of the experimental result (*n*=6)

农药	本底	加标浓度/(mg/kg)	平均回收率/%	相对标准偏差/%
涕灭威亚砷	N.D.	0.03	68.1	7.43
		0.32	57.5	3.60
涕灭威砷	N.D.	0.03	110.2	8.17
		0.32	108.6	6.68
灭多威	N.D.	0.03	98.7	12.00
		0.32	89.3	7.91
3-羟克百威	N.D.	0.03	78.4	8.63
		0.32	59.2	2.53
涕灭威	N.D.	0.03	101.4	9.45
		0.32	99.8	8.63
克百威	N.D.	0.03	110.2	10.16
		0.32	106.6	6.28

### 3.5 样品制备

实验采用 QuEChERS 法进行样品制备。通过实验及相关文献的报道<sup>[12-16]</sup>, 分别加入不同质量的 PSA(300、200、100 mg)及 GCB(10、7.5、5 mg)做样品净化, 通过测定加标回收率最终确定 PSA 及 GCB 的加入量分别为 100 mg 和 5 mg。既可有效去除色素等杂质的干扰, 又可节省实验时间, 提高工作效率。此法适用于大量样品的快速测定, 降低劳动强度。与液液分配和固相萃取相比较, 减少了复杂实验操作过程中实验室大量有机试剂的消耗和环境的污染。

### 3.6 基质效应

通过改变进样量发现不同进样量对氨基甲酸酯农药的基质效应有显著影响。当进样量为 10  $\mu\text{L}$  时, 灭多威、涕灭威亚砷、涕灭威砷呈负基质效应, 而涕灭威、克百威呈正的基质效应。将进样量减少到 3  $\mu\text{L}$  时, 回收率显著提高。因此通过减少进样量可有效减小样品的基质效应, 为达到良好控制基质带来的影响, 在保证方法灵敏度的条件下, 将进样量确定为 3  $\mu\text{L}$ , 以此控制样品的基质效应。

### 3.7 方法干扰

方法在现有条件下, 未见明显干扰物质, 但克百威的定量测定结果存在一定的问题。原因在于丁硫克百威农药的化学性质不稳定, 在实验条件极易水解为克百威, 因此在测定克百威阳性时, 可能存在丁硫克百威自身分解而生成克百威, 而不完全是克百威。从目前的样品制备技术, 在含水的制备液中, 丁硫克百威分解很迅速。即使是新配制的含水的稀释剂配制的标准溶液中也不能稳定存在, 这一点已经通过实验进行了验证。鉴于丁硫克百威的这种特征, 建议在测定这两种农药时可考虑将克百威的测定结果以克百威和丁硫克百威的总量来表述比较客观, 结果以克百威计。

## 4 结 论

应用 QuEChERS 法处理提取净化蔬菜样品中氨基甲酸酯类农药, 以超高效液相色谱串联三重四极杆质谱法 MRM 方式进样测定, 方法回收率稳定, 具有良好的精密度, 检出限满足蔬菜中氨基甲酸酯类农药及其代谢物的检测工作需要, 分析结果较为可靠。方法存在的问题是所测定的克百威为克百威和丁硫

克百威的总量, 原因在于丁硫克百威化学性质不稳定, 半衰期极短, 在水溶液中极易分解为克百威, 在现有样品制备条件下, 不能确定测定值是否为丁硫克百威含量、克百威含量或二者的总量之和。

### 参考文献

- [1] 雍宗锋, 卢培培. 气相色谱法同时测定食用菌中 7 种氨基甲酸酯农药残留[J]. 中国卫生检验杂志, 2013, 23(4): 830-832.  
Yong ZF, Lu PP. Simultaneous determination of 7 kinds of carbamate pesticides in edible fungi by gas chromatography [J]. Chin J Health Lab Technol, 2013, 23(4): 830-832.
- [2] 李劲峰, 金叶舟, 郑涛. 固相萃取-气相色谱法测定蔬菜中氨基甲酸酯类农药残留[J]. 理化检验(化学分册), 2010, (5): 537-538, 541.  
Li JF, Jin YZ, Zheng T. Determination of residual carbamate pesticides in vegetable by SPE-GC [J]. Phy Test Chem Anal Part B: Chem Anal, 2010, (5): 537-538, 541.
- [3] 黄利英. 高效液相色谱法检测大白菜中 7 种氨基甲酸酯类农药残留[J]. 西藏农业科技, 2013, 35(4): 23-26.  
Huang LY. Detection of 7 kinds of carbamate pesticide residues in Chinese cabbage by high performance liquid chromatography [J]. Tibet J Agric Sci, 2013, 35(4): 23-26.
- [4] 阮卓卿, 黎小鹏, 李拥军, 等. 高效液相色谱法测定草莓中 7 种氨基甲酸酯类农药[J]. 现代农业科技, 2014, (13): 141, 146.  
Ruan ZQ, Li XP, Li YJ, et al. Determination of 7 kinds carbamate pesticides residue in strawberry by high performance liquid chromatography [J]. Mod Agric Sci Technol, 2014, (13): 141, 146.
- [5] 王缙, 万妮. 高效液相色谱法测定蔬菜中 7 种氨基甲酸酯类农药研究[J]. 安徽农业科学, 2012, 40(33): 16129-16130.  
Wang T, Wan N. Determination of 7 carbamates residues in vegetable by HPLC [J]. J Anhui Agric Sci, 2012, 40(33): 16129-16130.
- [6] 胡芹芹, 李娜, 张华, 等. ELISA 及电化学法检测蒜头中氨基甲酸酯类农药残留[J]. 农药, 2009, 48(5): 352-354, 359.  
Hu QQ, Li N, Zhang H, et al. Determination of carbamate pesticides residues in Chinese onion by ELISA and electrochemical method [J]. Agrochemicals, 2009, 48(5): 352-354, 359.
- [7] 王连珠, 周昱, 黄小燕, 等. 基于 QuEChERS 提取法优化的液相色谱-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.  
Wang LZ, Zhou Y, Huang XY, et al. Determination of 51 carbamate pesticide residues in vegetables by liquid chromatography-tandem mass spectrometry based on optimization of QuEChERS sample preparation method [J]. Chin J Chromatogr, 2013, 31(12): 1167-1175.

- [8] 孙涛, 刘河疆, 胡开峰, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法快速测定蔬菜中 7 种氨基甲酸酯类农药残留[J]. 分析实验室, 2010, 29(4): 87-91.  
Sun T, Liu HJ, Hu KF, *et al.* Simultaneous determination of 7 kinds of carbamate pesticide residues in vegetable by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Chin J Anal Lab*, 2010, 29(4): 87-91.
- [9] 肖洋, 张琼, 叶冲. 固相萃取-液质联用法测定刺梨中 5 种氨基甲酸酯农药[J]. 中国方剂学杂志, 2014, 20(20): 91-94.  
Xiao Y, Zhang Q, Ye C. Determination of five carbamates pesticide residues in *rosa roxburghii fructus* by solid phase extraction and HPLC-MS-MS [J]. *Chin J Exp Tradit Med Formul*, 2014, 20(20): 91-94.
- [10] 张帆, 黄志强, 张莹, 等. 高效液相色谱-串联质谱法测定食品中 20 种氨基甲酸酯类农药残留[J]. 色谱, 2010, 28(4): 348-355.  
Zhang F, Huang ZQ, Zhang Y, *et al.* Determination of 20 carbamate pesticide residues in food by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Chin J Chromatogr*, 2010, 28(4): 348-355.
- [11] 顾亮, 丁磊. 液相色谱串联质谱法测定茶叶中氨基甲酸酯类物质研究[J]. 现代农业科技, 2012, (6): 286-287, 291.  
Gu L, Ding L. Study on determination of carbamate material in tea by liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry [J]. *Mod Agric Sci Technol*, 2012, (6): 286-287, 291.
- [12] 程志, 张蓉, 刘韦华, 等. 气相色谱-串联质谱法快速筛查测定中药材中 144 种农药残留[J]. 色谱, 2014, 32(1): 57-68.  
Cheng Z, Zhang R, Liu WH, *et al.* Rapid screening and quantitative analysis of 144 pesticide residues in traditional Chinese medicinal herbs by gas chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Chin J Chromatogr*, 2014, 32(1): 57-68.
- [13] Lehotay SJ, Son KA, Kwon H, *et al.* Comparison of QuEChERS sample preparation methods for the analysis of pesticide residues in fruits and vegetables [J]. *J Chromatogr A*, 2010, 1217: 2548-2560.
- [14] 马智玲, 赵文, 李凌云, 等. 气相色谱-三重四极杆串联质谱法快速测定蔬菜水果中 129 种农药的残留量[J]. 色谱, 2013, 31(3): 228-239.  
Ma ZL, Zhao W, Li LY, *et al.* Rapid determination of 129 pesticide residues in vegetables and fruits by gas chromatography-triple quadrupole mass spectrometry [J]. *Chin J Chromatogr*, 2013, 31(3): 228-239.
- [15] 张雪莲, 张耀海, 焦必宁. 气相色谱-串联质谱法结合 QuEChERS 法快速检测柑橘中 52 种农药多残留[J]. 食品科学, 2013, 34(6): 152-155.  
Zhang XL, Zhang YH, Jiao BN. Rapid determination of 52 pesticide Residues in citrus by gas chromatography-tandem mass spectrometry coupled with QuEChERS [J]. *Food sci*, 2013, 34(6): 152-155.
- [16] 阮华, 荣维广, 马永建, 等. QuEChERS-在线凝胶色谱-气相色谱-质谱法测定大米、黍子和小麦中 34 种农药残留. 色谱, 2013, 31(12): 1211-1217.  
Ruan H, Rong WG, Ma YJ, *et al.* Determination of 34 pesticide residues in rice, proso millet and wheat with QuEChERS-on line gel permeation chromatography-gas chromatography-mass spectrometry [J]. *Chin J Chromatogr*, 2013, 31(12): 1211-1217.

(责任编辑: 杨翠娜)

## 作者简介



卢忠魁, 硕士, 副主任技师, 主要研究方向为卫生理化检验。  
E-mail: lzk\_1973@163.com