

# 超高效液相色谱-串联质谱法测定植物油中 邻氨基苯甲二酰胺类农药

张云<sup>1\*</sup>, 黄传辉<sup>2</sup>, 陈泽宇<sup>1</sup>

(1. 三明出入境检验检疫局, 三明 365000; 2. 三明市食品药品审评与不良反应监测中心, 三明 365000)

**摘要:** **目的** 建立同时测定植物油中氰虫酰胺、氯虫苯甲酰胺和氟虫酰胺 3 种邻氨基苯甲二酰胺类杀虫剂残留量的超高效液相色谱-串联质谱 (ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, UPLC-MS/MS) 检测方法。 **方法** 植物油经环己烷-乙酸乙酯提取后, 采用凝胶渗透色谱 (gel permeation chromatography, GPC) 系统净化, UPLC 采用 Synchronic C<sub>18</sub> 色谱柱分离, 以乙腈和 5 mmol/L 乙酸铵溶液作为流动相进行梯度洗脱; 质谱采用电喷雾正离子源模式和多反应监测模式测定, 以外标法定量。 **结果** 3 种邻氨基苯甲二酰胺类农药的方法检出限均能达到 0.01 mg/kg, 在 0.01~0.2 mg/L 浓度范围内线性关系良好, 相关系数  $r > 0.9988$ , 在 0.01、0.02 和 0.1 mg/kg 3 个浓度水平进行加标回收, 回收率均在 72.6%~90.8% 范围之间; RSD 在 2.9%~9.9% 之间。 **结论** 该方法快速简便、灵敏度高、净化效果好, 且显著地缩短了检测时间, 可应用于植物油中邻氨基苯甲二酰胺类农药的快速分析。

**关键词:** 植物油; 邻氨基苯甲二酰胺; 凝胶渗透色谱; 超高效液相色谱-串联质谱

## Determination of anthranilic diamide pesticides in vegetable oil by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry

ZHANG Yun<sup>1\*</sup>, HUANG Chuan-Hui<sup>2</sup>, CHEN Ze-Yu<sup>1</sup>

(1. Sanming Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Sanming 365000, China;  
2. Sanming food and drug evaluation and adverse reaction monitoring center, Sanming 365000, China)

**ABSTRACT: Objective** To establish a method for simultaneous determination of 3 kinds of anthranilic diamide pesticide residues including cyantraniliprole, chlorantraniliprole and flubendiamide in vegetable oil by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS). **Method** Vegetable oil was extracted with cyclohexane and ethyl acetate solution, purified by gel permeation chromatography system (GPC), and separated by the Synchronic C<sub>18</sub> column with acetonitrile and 5 mmol/L ammonium acetate solution as mobile phase for gradient elution. Mass spectrometry used electro spray ionization in positive mode (ESI+) and multiple reaction monitoring (MRM) mode for detection with external standard method for quantification. **Results** The limits of detection of 3 kinds of anthranilic diamide pesticides could achieve 0.01 mg/kg, and they had good linear relationships in the range of 0.01~0.2 mg/L with correlation coefficients larger than 0.9988. The recoveries spiked at

基金项目: 国家质检总局科技计划项目(2015IK034)

**Fund:** Supported by the General Administration of Quality Supervision, Inspection and Quarantine Science and Technology Project (2015IK034)

\*通讯作者: 张云, 工程师, 硕士, 主要研究方向为营养与食品安全。E-mail: 48965461@qq.com

\*Corresponding author: ZHANG Yun, Engineers, Master, Sanming Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Qianlong Village 30#, Dongqian Road, Meilie District, Sanming 365000, Fujian, China. E-mail: 48965461@qq.com

3 levels of 0.01, 0.02 and 0.1 mg/kg were between 72.6%~90.8% with the relatively standard deviations (RSDs) of 2.9%~9.9%. **Conclusion** The method is quick, simple and sensitive, its purifying effect is good, which can significantly shorten the detection time and be applied on the rapid analysis of anthranilic diamide pesticides in vegetable oil.

**KEY WORDS:** vegetable oil; anthranilic diamide; gel permeation chromatography; ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry

## 1 引言

植物油包括花生油、大豆油、橄榄油、菜籽油和葵花籽油等<sup>[1]</sup>, 它们大多从油料作物中压榨提取, 是人们生活的必需品。然而, 农药在油料作物中的广泛使用在防治病虫害的同时, 也对农产品的质量安全造成了严重的危害。我国是世界上第一植物油消费大国, 但我国对于植物油中农药残留的研究与国际水平仍存在一定差距<sup>[2]</sup>。氰虫酰胺(yantraniliprole)、氟虫酰胺(flubendiamide)和氯虫苯甲酰胺(chlorantraniliprole)是目前市面上常见的 3 种邻氨基苯甲二酰胺类农药。该类杀虫剂是近几年 Dupont 公司从邻氨基苯甲二酰胺类化合物中筛选出来的二代广谱杀虫剂<sup>[3]</sup>, 可有效防治鳞翅目、鞘翅目和半翅目等昆虫<sup>[4,5]</sup>。

对植物油中农药残留进行检测时, 高含量的油脂成分是最大的基体干扰要素, 因此必须采用有效的样品前处理方法, 否则不但回收率低, 而且会对分析仪器造成严重污染, 降低其使用寿命<sup>[6]</sup>。目前, 国内外有关邻氨基苯甲二酰胺类农药残留检测的报道主要集中在原药<sup>[7,8]</sup>、土壤和动植物食品<sup>[9-12]</sup>中, 未见在植物油中采用超高效液相色谱-串联质谱法(ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, UPLC-MS/MS)同时测定氰虫酰胺、氟虫酰胺和氯虫苯甲酰胺 3 种邻氨基苯甲二酰胺类农药残留的公开报道。本研究采用凝胶渗透色谱(gel permeation chromatography, GPC)结合 UPLC-MS/MS 分析技术, 建立植物油中氰虫酰胺、氟虫酰胺和氯虫苯甲酰胺 3 种邻氨基苯甲二酰胺类农药残留的分析和定量检测方法。

## 2 材料与方法

### 2.1 仪器与试剂

AB SCIEX 3500 三重四级杆串联质谱仪(美国 AB SCIEX 公司), Autoclean 凝胶渗透色谱仪(美国 LabTech 公司), AE240 电子天平(瑞士梅特勒公司), SPT-24A 氮吹仪(北京斯珀特公司), KQ-500DE 超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司), Direct8 超纯水机(美国 Millipore 公司)。

乙腈、甲醇(色谱纯, 德国默克公司); 乙酸胺(色谱纯, 纯度 97%, 美国 Tedia 公司); 乙酸、无水硫酸镁、环己烷、

乙酸乙酯(纯度 99%, 西陇化工股份公司)均为分析纯。水: 符合 GB/T 6682 中一级水的规定。

氰虫酰胺、氟虫酰胺及氯虫苯甲酰胺标准品, 纯度均大于 97%, 购自 Dr.Ehrenstorfer 公司。

### 2.2 实验方法

#### 2.2.1 样品前处理

称取食用油样品 2.0 g(精确至 0.1 g)于 10 mL 容量瓶中, 加入环己烷-乙酸乙酯(1:1, V:V)混合溶液定容至 10 mL。取样液 2 mL 进样, 用凝胶渗透色谱仪进行分离净化, 收集 9~15 min 的组分于比色管中, 50 °C 条件下氮吹至干, 用 1 mL 流动相漩涡混匀溶解残渣, 过 0.22 μm 微孔滤膜后, 超高效液相色谱-串联质谱测定。

#### 2.2.2 仪器条件

##### (1) 凝胶渗透色谱条件

净化柱: S-X<sub>3</sub> Bio-Beads(粒径 38~75 μm, 填料 22 g); 流动相: 环己烷-乙酸乙酯(1:1, V:V); 等度洗脱; 流速: 5 mL/min; 净化程序: 0~9 min 弃去洗脱液, 9~16 min 收集洗脱液。

##### (2) 超高效液相色谱-串联质谱条件

色谱柱: Thermo synchronic C<sub>18</sub> 柱(50 mm×2.1 mm, 1.7 μm), 或相当者; 进样量: 10 μL; 柱温: 30 °C; 流速: 0.3 mL/min; 梯度洗脱程序见表 1。离子源: 电喷雾离子源正离子(electronic spray ion+, ESI+); 扫描方式: 多反应监测模式(multiple reaction monitoring, MRM); 辅助加热气、雾化气、碰撞气均为高纯氮气; 3 种邻氨基苯甲二酰胺类农药的质谱条件见表 2。

表 1 超高效液相色谱梯度洗脱程序  
Table 1 Gradient elution program of UPLC

时间 min	5 mmol/L 乙酸胺-甲酸溶液(%)	乙腈(%)
0	92	8
0.50	92	8
2.50	20	80
4.50	20	80
4.51	92	8
6.00	92	8

表 2 氰虫酰胺、氟虫酰胺、氯虫苯甲酰胺的质谱条件  
Table 2 Mass spectrometry parameters of cyantraniliprole, chlorantraniliprole and flubendiamide

药物名称	离子对 $m/z$	去簇电压 eV	碰撞气体能量 eV	碰撞池出口电压 eV
氰虫酰胺	474.9/285.9*	60	22	3
	474.9/177.0	60	57	3
氟虫酰胺	683.0/273.9*	70	43	4
	683.0/408.0	70	16	3
氯虫苯甲酰胺	483.9/452.9*	70	25	5
	483.9/285.9	70	20	3

注: \*表示定量离子对。

### 2.2.3 标准溶液的配制

分别称取适量氰虫酰胺、氟虫酰胺及氯虫苯甲酰胺标准品用甲醇配制成 100 mg/L 的标准储备液, 于  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$  以下避光保存, 使用时根据需要以流动相配成系列标准工作溶液, 使混合标准工作溶液中各组分浓度均为 0.01、0.02、0.05、0.1 及 0.2 mg/L。

### 2.2.4 定量测定

用上述系列标准工作溶液绘制标准工作曲线, 对样品溶液进行外标法定量, 样品溶液中待测物的响应值应在对照标准物质线性范围之内。

## 3 结果与讨论

### 3.1 净化条件的选择

植物油中农药残留的检测方法主要包括: (1)浸泡振荡、液-液分配和超声提取等传统方法<sup>[13]</sup>, 但该方法存在回收率低, 净化不彻底等问题; (2)固相萃取法<sup>[14-16]</sup>, 固相萃取柱可以去除植物油基质、有机酸等杂质, 但存在选择性不高、处理过程较为繁琐等缺点。GPC 能将分子量较大的甘油三酯基质与目标农药组分有效分离, 净化效果良好, 且省去了大量人工操作, 近年来得到广泛使用<sup>[17]</sup>。因此, 本研究采用 GPC 对待测植物油样品进行净化。为确定最佳的样品收集时间, 进样 6 min 后收集洗脱液, 以 1 min 为步长, 每 min 收集 1 管, 共收集 15 管, 分别于氮吹仪中  $50\text{ }^{\circ}\text{C}$  条件下氮吹至干, 流动相溶解后过滤, UPLC-MS/MS 测定。结果表明, 6~8 min 收集样液以及 16~20min 收集样液均为检出目标物。因此, 本文确定样液收集时间为 9~16 min。

### 3.2 质谱条件的优化

本研究采用正负离子质谱扫描模式, 对氰虫酰胺、氟虫酰胺和氯虫苯甲酰胺的质谱条件进行优化, 在混合标准

溶液浓度均为 1 mg/L 的条件下, 负离子模式下 Q1 信号强度均在  $1\times 10^3$  左右, 强度较低, 不适合采用; 在正离子 Q1 模式下, 分别扫描[+H]和[+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>的信号强度, 3 种物质母离子强度均超过了  $1\times 10^7$ , 但 Q3 模式下, 氰虫酰胺和氯虫苯甲酰胺只有[+H]产生的子离子强度较稳定。因此, 经过比较, 最后选择信号强且稳定的  $m/z$ : 474.9/285.9、474.9/177.0、483.9/452.9、483.9/285.9、683.0/408.0 及 683.0/273.9 为定性离子对, 其中信号较高的  $m/z$ : 474.9/285.9、483.9/452.9 和 683.0/408.0 为定量离子对。3 种邻氨基苯甲二酰胺类化合物的提取离子对色谱图见图 1~3。

### 3.3 方法的线性范围和检出限

准确配制邻氨基苯甲二酰胺类化合物的系列标准溶液, 质量浓度分别为 0.01、0.02、0.05、0.1 和 0.2 mg/L。按照 2.2.2 中的仪器条件进样分析后, 以峰面积  $Y$  对质量浓度  $X$  绘制工作曲线。结果表明, 线性相关系数  $r$  均大于 0.9988, 且在 0.01~0.2 mg/L 范围内呈良好的线性关系。

对空白样品进行加标回收实验(信噪比  $S/N=10$  为定量限 limit of quantization, LOQ 和  $S/N=3$  为检出限 limit of detection, LOD), 结合样品处理过程中的稀释倍数, 计算各组分的方法定量限和检出限。结果见表 3。

### 3.4 方法的准确度和精密度

以不含氰虫酰胺、氟虫酰胺和氯虫苯甲酰胺的植物油样品为本底, 分别添加 0.01、0.02 及 0.1 mg/kg 系列浓度的待测药物标准溶液, 按照 2.2 节所述实验方法进行回收率实验, 重复测定 6 次, 计算平均回收率和相对标准偏差。结果见表 4。

### 3.5 实际样品测定

应用所建立的方法对市场上购买的 10 批食用植物油

样品进行检测, 结果表明, 有一批样品中检出氯虫苯甲酰胺 0.09 mg/kg, 其余批次均未检出。谱图见图 4~5。由图可

见, 在 3 种邻氨基苯甲二酰胺标准物质出峰前后没有杂质峰干扰, 实际样品在氯虫苯甲酰胺处有明显出峰。

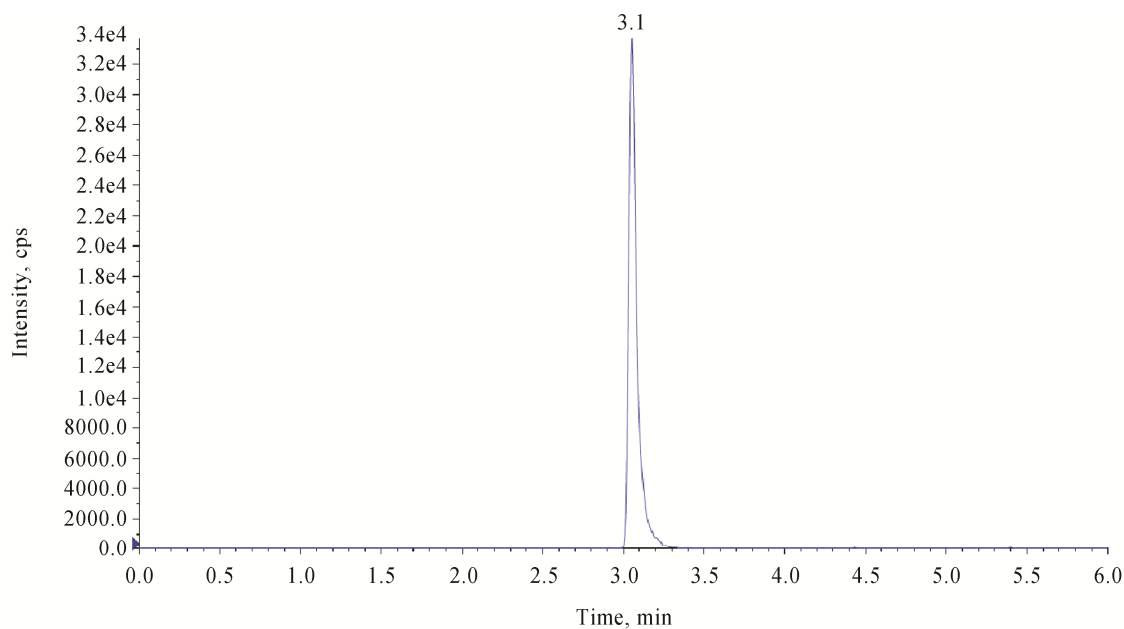


图 1 氰虫酰胺提取离子对色谱图

Fig. 1 Extract ion chromatogram of cyantraniliprole

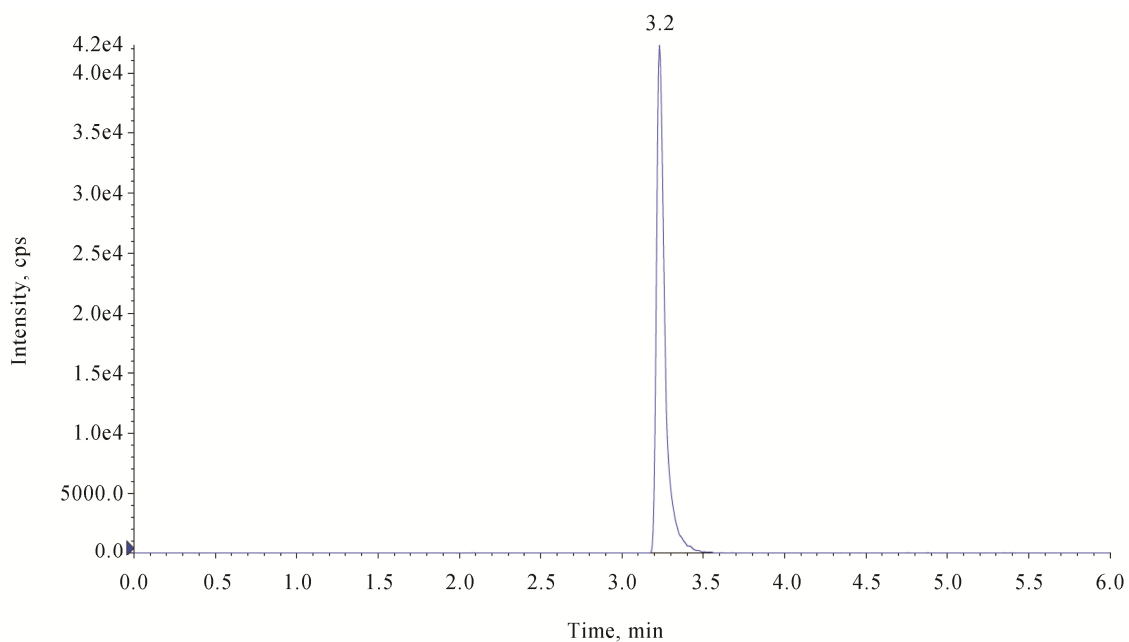


图 2 氯虫苯甲酰胺提取离子对色谱图

Fig. 2 Extract ion chromatogram of chlorantraniliprole

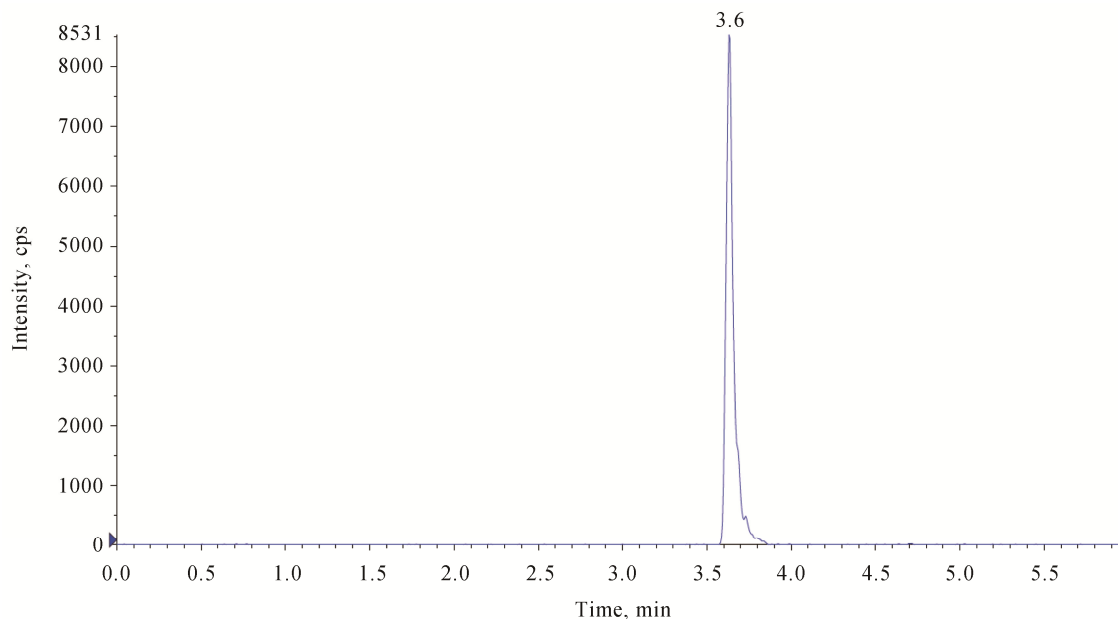


图3 氟虫酰胺提取离子对色谱图

Fig. 3 Extract ion chromatogram of flubendiamide

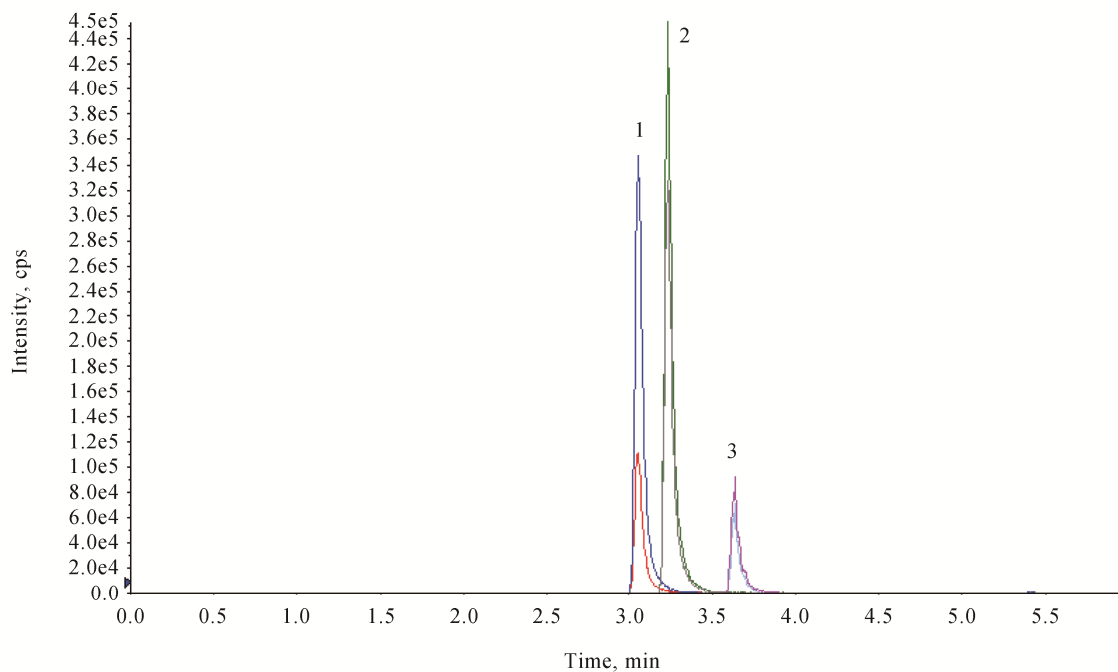
表3 邻氨基苯甲二酰胺类农药的线性回归方程、相关系数、检出限和定量限

Table 3 Linear regression equations, correlation coefficients, LODs and LOQs of anthranilic diamide pesticides

药物名称	线性范围(mg/L)	线性回归方程	相关系数 $r$	LOD( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	LOQ(mg/kg)
氟虫酰胺	0.01~0.2	$Y=1.18\times 10^5 X+1.32\times 10^4$	0.9988	0.8	0.003
氟虫酰胺	0.01~0.2	$Y=2.46\times 10^4 X+1.72\times 10^3$	0.9992	2.7	0.009
氯虫苯甲酰胺	0.01~0.2	$Y=1.73\times 10^5 X+7.84\times 10^3$	0.9999	1.6	0.006

表4 植物油样品中邻氨基苯甲二酰胺类农药的回收率和精密度( $n=6$ )Table 4 Recoveries and precisions of anthranilic diamide pesticides in vegetable oil ( $n=6$ )

药物名称	添加量(mg/kg)	回收率(%)						平均回收率(%)	相对标准偏差(%)
氟虫酰胺	0.01	76.4	82.0	92.0	99.2	82.0	81.2	85.5	9.9
	0.02	99.3	88.3	79.1	93.6	98.4	86.3	90.8	8.5
	0.1	86.6	91.2	90.0	89.8	93.0	94.0	90.8	2.9
氟虫酰胺	0.01	82.8	67.8	70.6	72.6	69.4	72.4	72.6	7.3
	0.02	77.5	85.0	72.0	88.8	86.4	85.5	82.5	7.8
	0.1	79.6	83.8	74.8	73.2	73.6	75.8	76.8	5.4
氯虫苯甲酰胺	0.01	86.6	75.4	70.8	79.0	82.8	69.4	77.3	8.7
	0.02	81.0	81.2	76.2	84.7	86.8	82.5	83.7	6.0
	0.1	85.0	89.2	86.8	76.6	80.8	84.0	83.7	5.4



1-氰虫酰胺; 2-氯虫苯甲酰胺; 3-氟虫酰胺

图 4 3 种邻氨基苯甲二酰胺类农药标准品色谱图

Fig. 4 Chromatogram of 3 kinds of anthranilic diamide pesticides standard

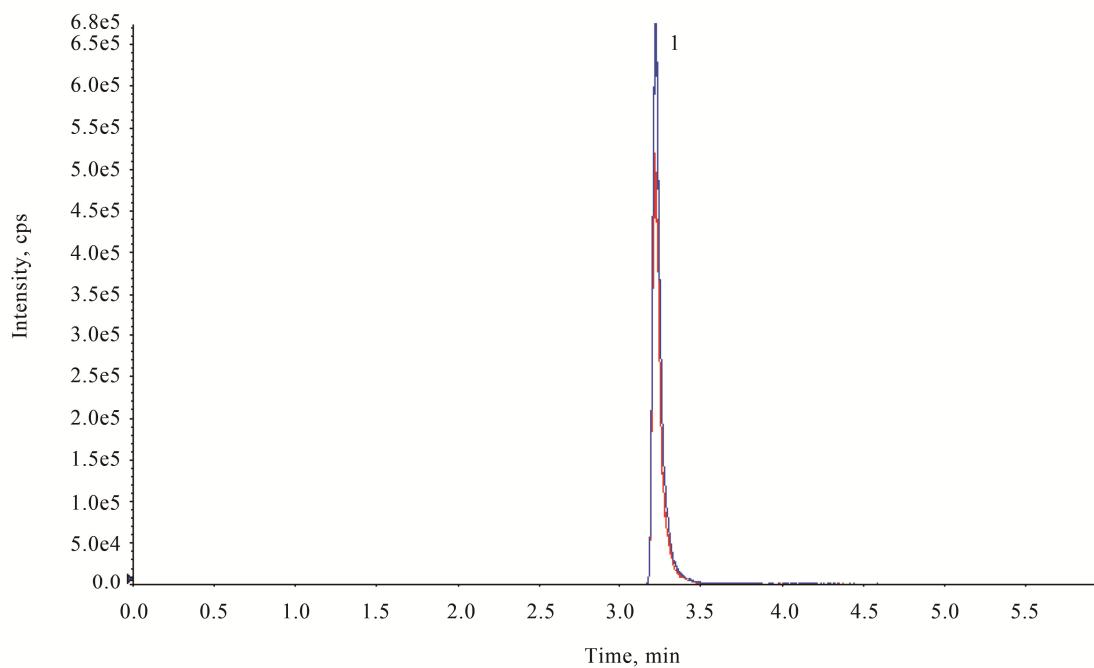


图 5 植物油实际样品谱图

Fig. 5 Chromatogram of actual vegetable oil sample

## 4 结 论

本研究将 GPC 净化技术和 UPLC-MS/MS 检测技术相

结合测定植物油中氰虫酰胺、氟虫酰胺和氯虫苯甲酰胺 3 种邻氨基苯甲二酰胺类农药的残留。各化合物检出限均可达到 0.01 mg/kg; 在浓度 0.01~0.2 mg/L 之间线性关系良好,

相关系数  $r$  均  $>0.9988$ ; 对于 0.01、0.02、0.1 mg/kg 3 个水平添加回收, 回收率平均值在 72.6%~90.8%之间, RSD 在 2.9%~9.9%之间。表明该方法快速简便、灵敏度高、净化效果好, 且显著地缩短了检测时间, 因此可应用于植物油中邻氨基苯甲二酰胺类农药的快速分析。

#### 参考文献

- [1] 李娜. 食用油安全问题浅析[J]. 中国粮食经济, 2008, (3): 17-18.  
Li N. Analysis on the safety of edible oil [J]. China Grain Econ, 2008, (3): 17-18.
- [2] 宋丹阳, 宫兆晶, 李培武, 等. 我国油料中农药残留限量与检测技术现状与发展趋势[J]. 中国油料作物学报, 2006, 28(3): 375.  
Song DY, Gong ZJ, Li PW, *et al.* A review on maximum residue limits and detection techniques for pesticides in oilseeds [J]. Chin J Oil Crop Sci, 2006, 28(3): 375.
- [3] 徐尚成, 俞幼芬, 王晓军, 等. 新杀虫剂氯虫苯甲酰胺及其研究开发进展[J]. 现代农药, 2008, 7(5): 8-11.  
Xu SC, Yu YF, Wang XJ, *et al.* Rynaxypyr, a new insecticide and its research & development in application[J]. Mod Agrochem, 2008, 7(5): 8-11.
- [4] Caballero R, Cyman S, Schuster DJ, *et al.* Baseline susceptibility of *Bemisia tabaci* (Genn.) biotype B in southern Florida to cyantraniliprole [J]. Crop Prot, 2013, 44(1): 104-108.
- [5] Lahm GP, Cordova D, Barry JD. New and selective ryanodine receptor activators for insect control [J]. Bioorg Med Chem, 2009, 17(3): 4127-4133.
- [6] 郭岚, 谢明勇, 鄢爱平, 等. GPC-GC-MS 对食用植物油中多种类型农药残留的同步测定[J]. 分析测试学报, 2009, 28(1): 67-71.  
Guo L, Xie M Y, Yan A P, *et al.* Simultaneous determination of multi-types of pesticide residues in edible vegetable oils by GPC-GC-MS method [J]. J Instrum Anal, 2009, 28(1): 67-71.
- [7] 亢晓冬, 孙霞, 沈礼, 等. 氯虫苯甲酰胺的高效液相色谱分析方法研究[J]. 浙江化工, 2010, 41(4): 31-32.  
Kang XD, Sun X, Shen L, *et al.* Analysis of chlorantraniliprole by HPLC [J]. Zhejiang Chem Ind, 2010, 41(4): 31-32.
- [8] 刘秦燕, 李伟, 阳仲斌, 等. 一种 20%氯虫苯甲酰胺悬浮剂的液相色谱检测方法研究[J]. 中国农学通报, 2015, 31(31): 213-216.  
Liu QY, Li W, Yang ZB, *et al.* Research on chromatography detection method of 20% chlorantraniliprole suspension liquid [J]. Chin Agric Sci Bull, 2015, 31(31): 213-216.
- [9] 秦冬梅, 秦旭, 徐应明, 等. 土壤和番茄中氯虫苯甲酰胺的残留检测与消解动态研究[J]. 农业环境科学学报, 2010, 29(5): 858-863.  
Qin D M, Qin X, Xu Y M, *et al.* Residue determination and degradation of chlorantraniliprole in soil and tomato [J]. J Agro-Environ Sci, 2010, 29(5): 858-863.
- [10] 占绣萍, 马琳, 陈建波. 高效液相色谱法测定蔬菜和土壤中氯虫苯甲酰胺甲氧基苯甲酰胺的残留[J]. 现代农药, 2010, 9(5): 47-50.  
Zhan XP, Ma L, Chen JB. Study on chlorantraniliprole and methoxyfenozide residue in vegetables and soil by HPLC [J]. Mod Agrochem, 2010, 9(5): 47-50.
- [11] 张云, 李今中, 李耀平, 等. 液相色谱法测定动物源性食品中氯虫苯甲酰胺和氟虫酰胺残留量[J]. 分析实验室, 2012, 31(4): 119-122.  
Zhang Y, Li JZ, Li YP, *et al.* Determination chlorantraniliprole and flubendiamide residues in foodstuffs of animal origin by high performance liquid chromatography [J]. Chin J Anal Lab, 2012, 31(4): 119-122.
- [12] 张云, 郑敬峰, 李耀平, 等. 液相色谱-串联质谱法测定动物源性食品中氯虫苯甲酰胺和氟虫酰胺残留量[J]. 食品科学, 2013, 34(10): 272-275.  
Zhang Y, Zheng JF, Li YP, *et al.* LC-MS/MS determination of chlorantraniliprole and flubendiamide residues in animal-derived foodstuffs [J]. Food Sci, 2013, 34(10): 272-275.
- [13] 黎其万, 刘宏程. 测定植物油中甲萘威和克百威农药残留的高效液相色谱法[J]. 食品与发酵工业, 2005, 8: 91-92.  
Li QW, Liu HC. Determination the residue of carbaryl and carbofuran in vegetable oil by HPLC[J]. Food Ferment Ind, 2005, 8: 91-92.
- [14] 吴丽华. 固相萃取-气相色谱法测定植物油中多种拟除虫菊酯类农药残留的方法探讨[J]. 粮食与粮食工业, 2013, (2): 62-67.  
Wu LH. Study on the methods for determination of various pyrethroid residue in vegetable oil by solid phase extraction-gas Chromatography [J]. Cereal Food Ind, 2013, (2): 62-67.
- [15] 朱晔乐. 气相色谱法测定植物油中 5 种有机磷农药残留[J]. 丽水学院学报, 2015, 37(5): 15-20.  
Zhu CL. The determination of 5 organophosphorus pesticide residues in vegetable oil by GC-NPD [J]. J Lishui Univ, 2015, 37(5): 15-20.
- [16] 徐娟, 王岚, 黄华军, 等. 低温冷冻及分散固相萃取净化-超高效液相色谱-串联质谱法测定植物油中 104 种农药残留[J]. 色谱, 2015, 33(3): 242-249.  
Xu J, Wang L, Huang HJ, *et al.* Low temperature freezing followed by dispersive solid phase extraction for the determination of 104 pesticide residues in vegetable oils using ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Chin J Chromatogr, 2015, 33(3): 242-249.
- [17] 阮华, 荣维广, 宋宁慧, 等. QuEChERS-在线凝胶色谱-气相色谱-质谱法测定植物油中 34 种农药残留[J]. 分析化学, 2014, 42(8): 1110-1116.  
Ruan H, Rong WG, Song NH, *et al.* Simultaneous determination of 34 pesticide residues in vegetable oil by quechers-on-line gel permeation chromatography-gas chromatography-mass spectrometry [J]. Chin J Anal Chem, 2014, 42(8): 1110-1116.

(责任编辑: 姚菲)

#### 作者简介

张云, 工程师, 硕士, 主要研究方向为营养与食品安全。

E-mail: 48965461@qq.com