

# 超高效液相色谱-串联质谱法测定八角中 甲霜灵和抗蚜威的残留量

卢娜, 刘磊, 李娜, 张宇娇, 张圆圆, 张玉婷\*

(天津市农业质量标准与检测技术研究所, 天津 300381)

**摘要:** **目的** 建立超高效液相色谱-串联质谱法检测八角中甲霜灵和抗蚜威残留量的分析方法。**方法** 利用乙腈/水混合溶剂提取, 盐析后取上清液, 通过 QuEChERS 方法净化, 用超高效液相色谱-串联质谱测定, 外标-标准曲线法定量。**结果** 甲霜灵和抗蚜威在 0.001~0.05 mg/L 范围内具有良好的线性关系, 相对系数均大于 0.999。3 个质量水平的添加 0.01、1、5 mg/kg, 甲霜灵回收率为 83.4%~105%, 相对偏差为 1.2%~6.5%。抗蚜威回收率为 81.3%~105%, 相对偏差为 1.3%~2.7%。**结论** 该方法简便、快捷、分离净化效果好, 灵敏度高, 精密度和准确度均达到农药残留检测要求。

**关键词:** 甲霜灵; 抗蚜威; 超高效液相色谱-串联质谱法; 八角

## Determination of metalaxyl and pirimicarb residues in star anise by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry

LU Na, LIU Lei, LI Na, ZHANG Yu-Jiao, ZHANG Yuan-Yuan, ZHANG Yu-Ting\*

(Tianjin Institute of Agricultural Quality Standard and Testing Technology, Tianjin 300381, China)

**ABSTRACT: Objective** To establish a method for the determination of metalaxyl and pirimicarb residues in star anise by ultra high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS). **Methods** The mixture was extracted with acetonitrile/water mixed solvent, and the supernatant was extracted after salting out, purified by QuEChERS method, determined by ultra high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, and quantified by external standard-standard curve method. **Results** There was a good linear relationship between methanolin and aphid in the range of 0.001–0.05 mg/L, and the relative coefficient was greater than 0.999. The recovery rate of metoxiflin was 83.4%–105% with the three addition at quality levels of 0.01, 1 and 5 mg/kg, and the relative deviation was 1.2%–6.5%. The recovery rate of aphid resistance was 81.3%–105%, and the relative deviation was 1.3%–2.7%. **Conclusion** The method is simple, rapid with good separation and purification effect, high sensitive, the precise and accuracy meet the requirements of pesticide residues detection.

**KEY WORDS:** metalaxyl; pirimicarb; ultra high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry; star anise

基金项目: 天津市农业科技成果转化与推广项目(201901040)、农业行业标准制定和修订(14192064)

**Fund:** Supported by Transformation and Extension Project of Agricultural Scientific and Technological Achievements in Tianjin (201901040), Formulation and Revision of Agricultural Industry Standards (14192064)

\*通讯作者: 张玉婷, 研究员, 主要研究方向为农产品质量安全。E-mail: yutingtj@163.com

\*Corresponding author: ZHANG Yu-Ting, Professor, Tianjin Institute of Agricultural Quality Standard and Testing Technology, Tianjin 300381, China. E-mail: yutingtj@163.com

## 1 引言

抗蚜威(pirimicarb)是一种氨基甲酸酯类杀虫剂, 主要防治对有机磷杀虫剂产生抗药性的棉铃蚜虫, 是高效、中等毒性、低残留的杀虫剂, 广泛用于果树、谷类、豆类、蔬菜、花卉等, 对其蚜虫天敌无不良影响<sup>[1,2]</sup>。甲霜灵(metalaxyl)是一种新型高效内吸性杀菌剂, 具有内吸性和渗透性强, 药效高、低毒性, 残效期时间长等特点。主要用于真菌、卵菌剂、藻菌剂引起的瓜果蔬菜类的疫霉病、立枯病、根腐病、茎腐病、果腐病和谷子白发病的治疗有效<sup>[3-6]</sup>。

八角是木兰科八角属被子植物, 亦称八角茴香、大茴香等, 主要分布在广东、云南、福建、广西等, 其干燥成熟的果实含有脂肪油 22%、芳香油 5%~8%以及树脂和蛋白质等, 是居家必备调料, 在食品加工等方面有广泛用途<sup>[7]</sup>。由于八角中成分较为复杂, 为了克服农药多残留测定中可能遇到的各种在分析其它种类样品过程中遇到的干扰因素, 采用 QuEChERS (quick, easy, cheap, effective, rugged, safty)方法, 可以减少称样量, 避免称样量过大造成的过多杂质干扰, 利用吸附剂填料与基质中的杂质相互作用, 达到除杂净化的目的。

我国 GB 2763-2016《食品安全国家标准 食品中农药最大残留限量》<sup>[8]</sup>规定甲霜灵在种子类调味剂的最高残留限量(maximum residue limit, MRL)值为 5 mg/kg, 抗蚜威在种子类调味剂 MRL 值为 5 mg/kg。欧盟规定甲霜灵在茴香、八角 MRL 值为 0.05 mg/kg, 抗蚜威在茴香、八角 MRL 值为 0.05 mg/kg。日本规定甲霜灵在其它香料 MRL 值为 5 mg/kg, 抗蚜威在其它香料 MRL 值为 3 mg/kg。美国未规定甲霜灵和抗蚜威在八角中的 MRL 值。

甲霜灵常用液相色谱以及酶联免疫试剂盒<sup>[9,10]</sup>。抗蚜威常用液相色谱法<sup>[11-13]</sup>。近年来的文献报道中, 液相色谱串-联质谱技术凭借着特异性高、灵敏度高的优势为农残检测提供了更有效的技术方法<sup>[14,15]</sup>。甲霜灵和抗蚜威对食品安全有一定的危害, 乱用药现象层出不穷。目前国内没有甲霜灵和抗蚜威在八角中的分析方法。因此本研究采用超高效液相色谱-串联质谱法, 对八角中甲霜灵和抗蚜威的残留进行定量分析, 为其色谱条件及方法有效性和合理使用提供技术支持, 并为食品安全监控提供一定的科学依据。

## 2 材料与方 法

### 2.1 样品来源

八角样品: 采购于当地市场(产地: 广西 45 份样品、云南 5 份样品)。

### 2.2 仪器与试剂

Acquity UPLC 超高效液相色谱仪(美国 Waters 公司); I-Class/Xevo TQ-S 三重四极杆质谱仪(配电喷雾离子源, 美

国 Waters 公司); CK2000 高通量组织研磨仪(北京托摩根生物科技有限公司); L550 台式离心机(湘仪离心机仪器有限公司); Milli-Q 超纯水仪(美国 Millipore 公司); SCDEALL VX-III 多管旋涡振荡器(北京踏锦科技有限公司)等。

甲霜灵标准品(纯度  $\geq 98.7\%$ , 德国 Dr.Ehrenstorfer GmbH 公司); 抗蚜威标准品(纯度  $\geq 98.7\%$ , 德国 Dr.Ehrenstorfer GmbH 公司); 甲醇、乙腈(色谱纯, 德国默克公司); 乙腈(分析纯, 天津市康科德科技有限公司); 氯化钠(分析纯, 天津市风船化学试剂科技有限公司); C<sub>18</sub>、PSA(60  $\mu\text{m}$ , 上海安谱实验科技有限公司); GCB(120~400  $\mu\text{m}$ , 美国 Agela 公司)。

## 2.3 实验方法

### 2.3.1 前处理方法

称取 2 g 样品于 50 mL 离心管中, 加入 5 mL 水、20 mL 乙腈, 垂直振荡 15 min, 加入 3 g 氯化钠, 4000 r/min 离心 5 min, 取乙腈 2 mL 于装有 50 mg PSA+50 mg C<sub>18</sub>+30 mg GCB 的 10 mL 离心管中净化, 涡旋 1 min, 4000 r/min 离心 5 min, 取上清液过 0.22  $\mu\text{m}$  滤膜, 待测。

### 2.3.2 仪器条件

#### (1)超高效液相色谱条件

色谱柱: Acquity BEH C<sub>18</sub>(2.1 mm $\times$ 50 mm, 1.7  $\mu\text{m}$ ); 柱温: 40  $^{\circ}\text{C}$ ; 进样量: 1  $\mu\text{L}$ ; 流动相: A: 乙腈, B: 0.1%甲酸; 梯度洗脱程序见表 1。

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

时间/min	流速/(mL/min)	A/%	B/%
0	0.25	10	90
2	0.25	10	90
2.5	0.25	90	10
3	0.25	10	90

#### (2)质谱条件

离子源: ESI(+)(electron spray ionization); 毛细管电压: 3.0 kV; 离子源温度: 150  $^{\circ}\text{C}$ ; 脱溶剂气温度: 450  $^{\circ}\text{C}$ ; 锥孔反吹气流量: 150 L/h; 脱溶剂气流量: 900 L/h; 雾化气流量: 7 bar。

检测方式为多反应监测扫描模式(multiple reaction monitoring, MRM), 见表 2。

## 3 结果与分析

### 3.1 质谱条件的确定

在电喷雾 ESI+模式下, 对甲霜灵和抗蚜威进行分子离子全扫描, 然后确定 2 个响应高、比较稳定的定性离子, 选择其中响应值高的离子作为定量离子, 多反应监测扫描模式(MRM)进行扫描。甲霜灵的保留时间是 2.28 min, 抗蚜威的保留时间是 1.81 min, 图 1~2。

表 2 离子选择参数表  
Table 2 Ion selection parameters

名称	电离方式	定性离子对( $m/z$ )	定量离子对( $m/z$ )	锥孔电压/V	碰撞能量/V
甲霜灵	ESI(+)	280.1>192.1 280.1>220.1	280.1>192.1	15	17 13
抗蚜威	ESI(+)	239>72 239>182.1	239>72	25	18 15

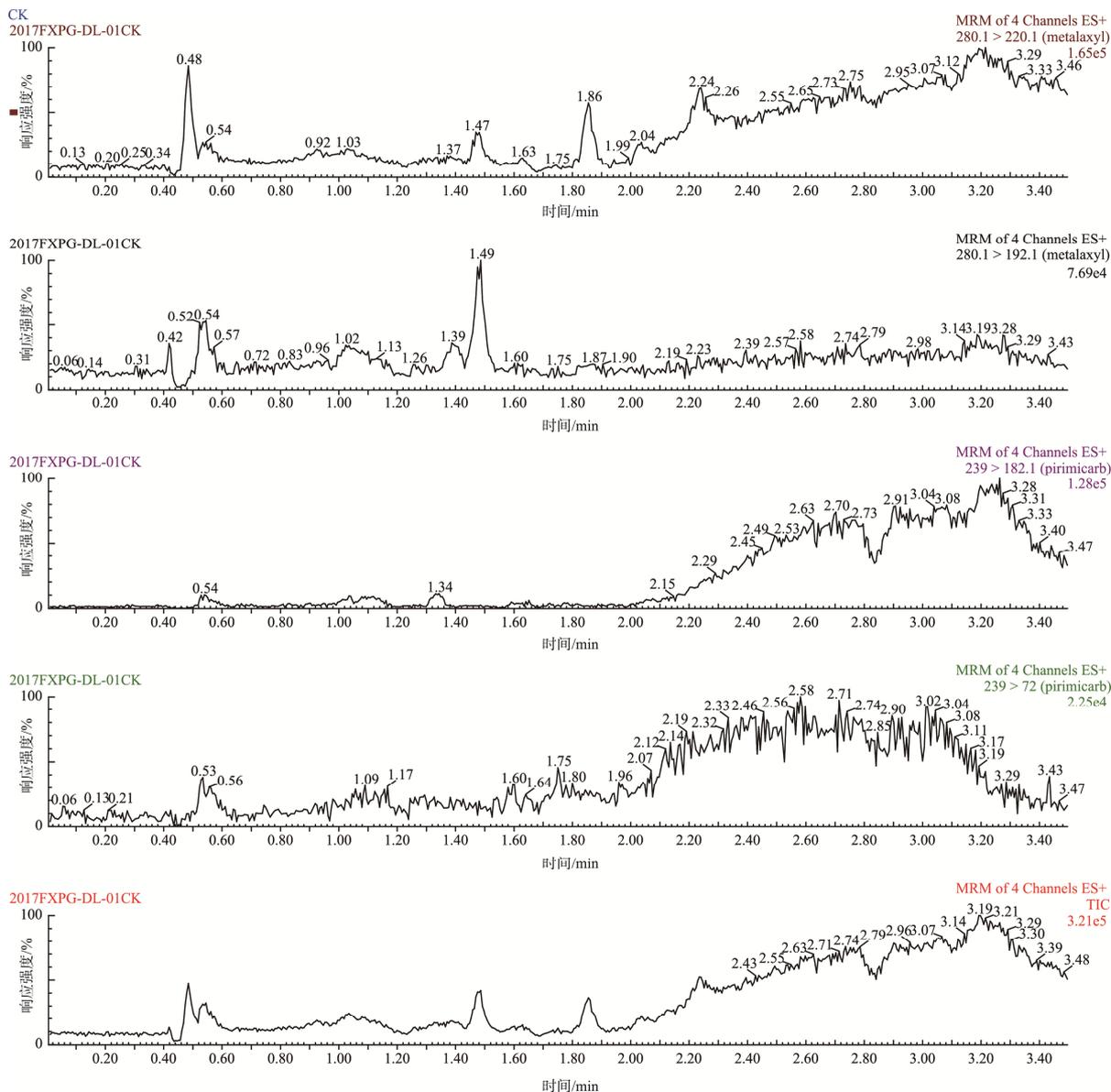


图 1 八角空白色谱图

Fig.1 Chromatogram of blank star anise matrix

### 3.2 标准曲线线性范围和检出限

配制甲霜灵和抗蚜威混合标准溶液系列浓度, 防止基质效应干扰, 使用八角基质空白溶液稀释配得 0.001、0.005、0.01、0.02、0.05 mg/L 系列混合标准溶液, 在上述液相色谱/质谱条件下进行测定, 以甲霜灵和抗蚜威标准

溶液浓度(mg/L)为横坐标, 峰面积为纵坐标作线性回归。并分别以 3 倍、10 倍基线噪声所对应的待测物浓度计算甲霜灵抗蚜威的检出限, 见表 3。甲霜灵和抗蚜威在 0.001~0.05 mg/L 范围内线性关系良好, 相关系数均大于 0.999。

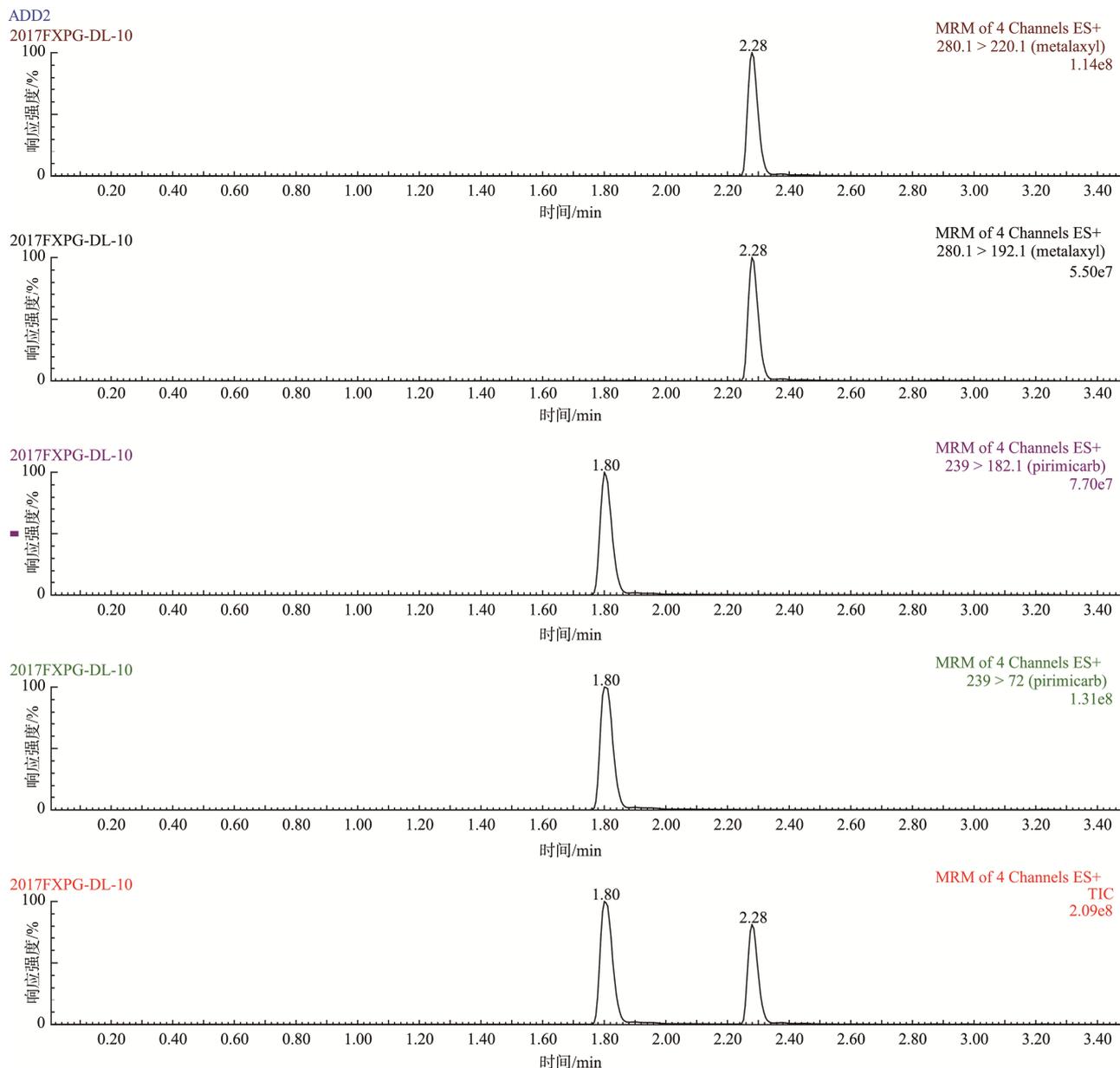


图 2 八角中添加混标溶液色谱图(1 mg/kg)

Fig.2 Chromatogram of mixed standard solution in star anise (1 mg/kg)

表 3 方法的线性方程和相关系数

Table 3 Linear equations and correlation coefficients

农药名称	线性范围/(mg/L)	线性方程	相关系数 $r$	检出限/(mg/kg)	定量限/(mg/kg)
甲霜灵	0.001~0.05	$Y=25257682.7X+12694.9$	0.9996	0.003	0.01
抗蚜威	0.001~0.05	$Y=94920746.2X+44398$	0.9997	0.003	0.01

### 3.3 方法的准确度与精密度

分别在空白八角样品中添加 0.01、1、5 mg/kg 的甲霜灵和抗蚜威标准溶液, 每个浓度 5 个平行样品, 用上述分析方法测定回收率, 结果见表 4。

### 3.4 前处理方法优化

八角中存在色素、油脂、有机酸等杂质。PSA 的化学成分为 N-丙基乙二胺, 含 2 个胺基, 通过离子交换有效地去除样品基质中的脂肪酸、酚类、碳水化合物等酸

性干扰物质, 有效避免干扰成分积聚于进样口和柱头而引起基质效应等现象的发生<sup>[16]</sup>。C<sub>18</sub> 是反相吸附剂, 可以去除脂肪和脂类等, 减少干扰物质对分析检测的影响。GCB 具有片层结构, 对平面分子具有较好的保留, 多用作农残品种农药残留的分析, 植物性样品中含有大量色

素会对农药残留分析产生影响并危害分析仪器<sup>[17]</sup>。未通过净化的甲霜灵回收率在 85%左右, 抗蚜威回收率在 80%, 有杂质峰的干扰, 对仪器干扰大。实验表明选取 3 种吸附剂粉末用于前处理净化和目标物的回收率效果明显。见表 5、图 3~4。

表 4 方法的回收率和相对偏差(n=5)  
Table 4 Recoveries and RSD (n=5)

农药名称	添加浓度/(mg/kg)	回收率/%					平均回收率/%	相对标准偏差 RSD/%
甲霜灵	0.01	88.7	84.4	83.4	87.5	85.6	85.9	6.5
	1	92.9	92.2	93.8	92.0	90.8	92.3	1.2
	5	103	105	101	103	98.8	102	2.1
抗蚜威	0.01	83.8	81.4	81.3	83.9	82.4	82.6	1.5
	1	91.1	91.8	93.2	90.7	90.0	91.4	1.3
	5	98.4	105	101	99.4	98.7	101	2.7

表 5 对比净化与未净化目标物  
Table 5 Comparison of purified and unpurified targets

农药名称	添加浓度/(mg/kg)	甲霜灵平均回收率/%	抗蚜威平均回收率/%
净化	1	92.3	91.4
未净化	1	85.2	80.6

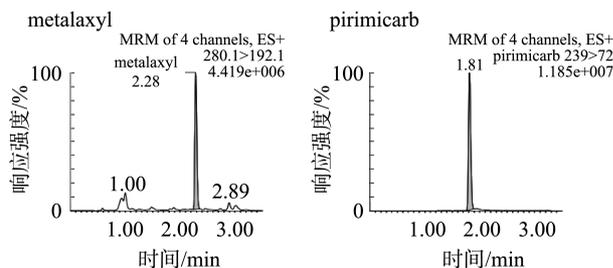


图 3 未净化目标物  
Fig.3 Unpurified target

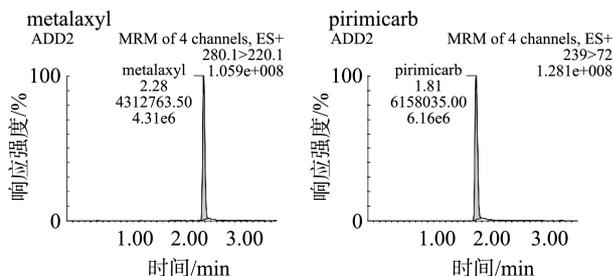


图 4 三种吸附剂净化后目标物  
Fig.4 Three kinds of adsorbent powder after purification of the target

### 3.5 实际样品的检测

超高效液相色谱-串联质谱法对广西 45 份样品、云南 5 份样品, 共计 50 份样品进行检测分析, 并采用样品加标

和平行样进行质量控制。结果甲霜灵和抗蚜威均低于方法的定量限。

## 4 结论与讨论

本研究建立了八角中甲霜灵和抗蚜威残留的 UPLC-MS/MS 方法, 利用标准曲线进行定量分析。考察了分析方法的线性回归方程、回收率和相对标准偏差, 符合农药残留分析的要求。使用了 QuEChERS 方法净化, 结果表明, 此方法具有回收率高、精准度和准确度高、重现性好、前处理制备简便, 快速、使用溶剂少, 污染小、净化效果好, 在实际样品检测中准确高效。通过摸索前处理方法, 仪器条件改变基质干扰, 获得目标物最佳检测条件, 为下一批次的风险监测任务提供了依据和经验。

### 参考文献

[1] 张国文, 李蔚博, 赵楠, 等. 荧光光谱法测定杀虫剂抗蚜威的残留量 [J]. 南昌大学学报(理科版), 2010, (4): 47-50.  
Zhang GW, Li WB, Zhao N, et al. The residue of insecticide against aphid was determined by fluorescence spectrometry [J]. Nanchang J Univ (Nat Sci), 2010, (4): 47-50.

[2] 刘宏程, 黎其万, 周世萍, 等. 荧光检测-高效液相色谱法测定水果、蔬菜中抗蚜威残留量 [J]. 分析试验室, 2005, 24(9): 52-54.  
Liu HC, Li QW, Zhou SP, et al. Fluorescence detection and high performance liquid chromatography (HPLC) were used to determine the residues of resistance to pirimicarb in fruits and vegetables [J]. Chin J

- Anal Lab, 2005, 24(9): 52–54.
- [3] 殷春杭, 朱国念, 钱允辉, 等. 蔬菜中甲霜灵残留量的 HPLC 分析[J]. 农药, 2006, 45(10): 686–686.  
Yin CH, Zhu GN, Qian YH, *et al.* HPLC determination metalaxyl residues in vegetable [J]. Agrochemicals, 2006, 45(10): 686–686.
- [4] 张璟, 严海峰, 周卷华, 等. 绞股蓝中甲霜灵残留量 SFE/GC-MS 检测方法研究[J]. 陕西农业科学, 2008, 54(2): 85–86.  
Zhang J, Yan HF, Zhou JH, *et al.* Study on the method of SFE/GC-MS for the determination of metalaxyl in gynostemma [J]. Shanxi J Agric Sci, 2008, 54(2): 85–86.
- [5] 郑雪虹, 潘永波, 吕岱竹, 等. 高效液相色谱法对西瓜和香蕉中甲霜灵残留的测定[J]. 热带农业科学, 2013, 33(9): 50–54.  
Zheng XH, Pan YB, Lv DZ, *et al.* Determination of metalaxyl in watermelons and bananas by HPLC [J]. Chin J Trop Agr, 2013, 33(9): 50–54.
- [6] 肖慧, 田蒙奎. 高效液相色谱法同时测定水中的甲霜灵和啞霉灵[J]. 贵州科学, 2018, 36(3): 94–96.  
Xiao H, Tian MK. Simultaneous determination of metalaxyl and hymexazol in water by high performance liquid chromatography [J]. Guizhou Sci, 2018, 36(3): 94–96.
- [7] 高艳丽, 史荣军. 八角茴香果实中酚苷类成分的研究[J]. 中成药, 2016, 38(1): 107–110.  
Shang YL, Shi RJ. Phenolic glycosides from the fruits of *Illicium verum* [J]. Chin Tradit Pat Med, 2016, 38(1): 107–110.
- [8] GB 2763-2016 食品安全国家标准 食品中农药最大残留限量[S].  
GB 2763-2016 National food safety standard-Maximum residue limits for pesticides in food [S].
- [9] 周洪斌, 徐文久, 朱金连, 等. 进出口植物产品中甲霜灵残留量酶联免疫检测试剂盒的研究[J]. 免疫学杂志, 2005, 21(1): 138–141.  
Zhou HB, Xu WJ, Zhu JL, *et al.* Research of ELISA kit for screening metalaxyl residues in importing and exporting plants [J]. Immunol J, 2005, 21(1): 138–141.
- [10] 毛健伟, 刘建国, 刘哲, 等. 甲霜灵、霜霉威在人参中的残留检测方法研究[J]. 农药科学与管理, 2019, 40(1): 41–45.  
Mao JW, Liu JG, Liu Z, *et al.* Study on Determination of metalaxyl and propamocarb residues in ginseng [J]. Pestic Sci Admin, 2019, 40(1): 41–45.
- [11] 史明, 鞠宏亮. 高压液相色谱荧光法测定蔬菜的抗蚜威残留量[J]. 社区医学杂志, 2005, 3(10): 78–79.  
SHI M, Ju HL. High pressure liquid chromatography fluorescence method was used to determine the residue of resistance to pirimicarb in vegetables [J]. J Community Med, 2005, 3(10): 78–79.
- [12] 白亚之, 张晓, 李崇瑛. MSPD-HPLC 测定大米中痕量西维因和抗蚜威残留[J]. 化学工程与装备, 2008, (4): 132–134.  
Bai YZ, Zhang X, Li CY. Determination of trace carbaryl and pirimicarb resistance in rice by MSPD-HPLC [J]. Chem Eng Eqp, 2008, (4): 132–134.
- [13] 马广源, 刘颖超, 庞民好, 等. 高效液相色谱法测定抗蚜威在小麦籽粒中的残留[J]. 农药, 2007, 46(6): 405–406.  
Ma GY, Liu YC, Pang MH, *et al.* HPLC determination of pirimicarb residues in wheat seed [J]. Agrochemical, 2007, 46(6): 405–406.
- [14] 陈军, 樊继鹏, 谢鑫陟. 液质联用法测定葡萄酒中多菌灵、甲霜灵的残留[J]. 食品研究与开发, 2015, (13): 95–98.  
Chen J, Fan JP, Xie XS. Determination of carbendazim and metalaxyl in wine by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Food Res Dev, 2015, (13): 95–98.
- [15] 江阳, 王艳, 杨丰义, 等. 直接进样-超高效液相色谱串联质谱法同时测定生活饮用水中 9 种痕量氨基甲酸酯类农药的应用[J]. 预防医学情报杂志, 2019, 35(5): 498–504.  
Jiang Y, Wang Y, Yang FY, *et al.* Simultaneous determination of nine trace carbamate pesticides in drinking water by UPLC-MS/MS with direct injection [J]. J Prev Med Inf, 2019, 35(5): 498–504.
- [16] 谢景丽, 李凌云, 刘新艳, 等. 改进的 QuEChERS-液相色谱串联质谱法快速测定中草药中 147 种农药残留[J]. 农产品质量与安全, 2016, (2): 65–69.  
Xie JL, Li LY, Liu XY, *et al.* Rapid determination of 147 pesticide residues in Chinese herbal medicines by improved QuEChERS liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. Qual Saf Agro-Prod, 2016, (2): 65–69.
- [17] 宋淑玲, 李重九, 马晓东, 等. 蔬菜中残留农药的石墨化碳黑净化和气相色谱-质谱检测方法[J]. 分析化学, 2008, 36(11): 1526–1530.  
Song SL, Li CJ, Ma XD, *et al.* Graphitization carbon black purification and gas chromatography-mass spectrometry detection method for residual pesticides in vegetables [J]. Anal Chem, 2008, 36(11): 1526–1530.

(责任编辑: 于梦娇)

## 作者简介



卢娜, 助理研究员, 主要研究方向为农药残留研究。  
E-mail: luna160527@163.com



张玉婷, 研究员, 主要研究方向为农产品质量安全。  
E-mail: yutingtj@163.com