

# 固相萃取-液质联用法测定刺梨中 5 种氨基甲酸酯农药

肖洋<sup>1\*</sup>, 张琼<sup>1</sup>, 叶冲<sup>2</sup>

(1. 国家酒类及饮料质量监督检验中心 贵州省产品质量监督检验院, 贵阳 550001;  
2. 贵州中烟工业有限责任公司技术中心, 贵阳 550009)

**[摘要]** **目的:** 建立刺梨中甲萘威、灭多威、涕灭威、残杀威、克百威等 5 种氨基甲酸酯类农药残留检测方法。**方法:** 采用高速匀浆制备样品, 以乙腈为提取溶剂, 提取液浓缩后经氨基固相萃取小柱净化, 采用梯度洗脱分离, 色谱系统条件为 Thermo Hypersil GOLD 色谱柱(2.1 mm × 100 mm, 1.9 μm), 柱温 20 °C, 流速 300 μL·min<sup>-1</sup>, 进样量 10 μL。在电喷雾正离子模式下, 使用三重四级杆质谱仪上以多反应检测模式测定, 质谱系统条件为喷雾电压 3.0 kV, 鞘气压力 40 psi, 碰撞气压力 1.5 mTorr, 离子传输管温度 350 °C, 蒸发温度 250 °C。**结果:** 5 种农药在 0.5 ~ 100 μg·L<sup>-1</sup> 线性关系良好, 相关系数均 > 0.999 0, 方法检出限为 0.2 μg·kg; 低、中、高 3 个水平的加标平均回收率在 77.9% ~ 107.2%, RSD 在 4.5% ~ 13.2%。**结论:** 该法快速、准确、灵敏, 适合刺梨中克百威等 5 种氨基甲酸酯类农药的残留分析。

**[关键词]** 高效液相色谱串联质谱; 氨基甲酸酯农药; 刺梨

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)20-0091-04

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2014200091

## Determination of Five Carbamates Pesticide Residues in Rosa Roxburghii Fructus by Solid Phase Extraction and HPLC-MS-MS

XIAO Yang<sup>1\*</sup>, ZHANG Qiong<sup>1</sup>, YE Chong<sup>2</sup>

1. National Alcohol & Drink Quality Supervision and Inspection Centre, Institute of Products Detection and Supervision of Guizhou Province, Guiyang 550001, China;  
2. Technology Center, China Tobacco Guizhou Industrial Co. Ltd., Guiyang 550009, China

**[Abstract]** **Objective:** To establish one quick method for the determination of five carbamate pesticides including carbaryl, methomyl, aldicarb, suncide and carbofuran in Rosa Roxburghii Fructus by using SPE and HPLC-MS-MS. **Method:** The sample was cheated by high speed homogenizer, extracted by acetonitrile, cleaned by carbon/NH<sub>2</sub> cartridge, separated by gradient elution, the chromatographic condition were column: Thermo Hypersil GOLD columns (2.1 mm × 100 mm, 1.9 μm), temperature 20 °C, speed 300 μL·min<sup>-1</sup>, inject 10 μL. Five pesticides were detected with positive-ion electro-spray ionization mass spectrometry in MRM model. The Mass spectrometry condition were spray volage 3.0 kv, sheath gas 40 psi, collision gas pressure 1.5 mTorr, capillary temperature 350 °C, vaporizer temperature 250 °C. **Result:** The calibration curve was liner in the range of 0.5-100 μg·L<sup>-1</sup> (r > 0.999), the limits of detection was 0.2 μg·kg; the recoveries were in the range from 77.9% to 107.2% at low, middle and high levels, RSD were 4.5%-13.2%. **Conclusion:** The method is rapid, sensitive and suitable for analyzing carbamate pesticides residues in Rosa Roxburghii Fructus.

**[Key words]** liquid chromatography-tandem mass spectrometry; carbamate pesticides; Rosa Roxburghii Fructus

**[收稿日期]** 20140328(007)

**[基金项目]** 国家质检总局科技计划项目(2012QK099)

**[通讯作者]** \* 肖洋, 博士, 高级工程师, 从事农药环境行为研究, Tel:15885008150, E-mail: yangxiao0858@sina.com

刺梨原产云贵高原,目前贵州、四川、江西、湖北等省有人工栽培<sup>[1]</sup>。刺梨含有丰富的维生素 C (VC)、超氧化物歧化酶(SOD)、刺梨黄酮、刺梨多糖等多种生物活性成分,已报道其有抗氧化<sup>[2]</sup>、抗动脉粥样化<sup>[3]</sup>、抗肿瘤<sup>[4]</sup>、防治糖尿病<sup>[5]</sup>等药理效应,但鲜见刺梨中农药残留检测相关报道。

作为有机氯农药的替代品,氨基甲酸酯类农药(简写 NMCs)已成为目前国内使用量较大的杀虫剂之一<sup>[6]</sup>;目前测定氨基甲酸酯类农药的方法有电化学法<sup>[7]</sup>、气相色谱氮磷检测器法<sup>[8]</sup>、气相色谱-质谱法<sup>[9]</sup>和高效液相色谱法<sup>[10-11]</sup>。高效液相色谱法为分析氨基甲酸酯的传统方法,但 UV 检测器不够灵敏;柱后衍生及荧光检测器的 HPLC 系统,过程复杂,分析不熟练或操作水平不高易导致测定结果的不准确<sup>[10]</sup>。

本文采用电喷雾正离子模式,通过优化液相色谱和质谱条件,建立了刺梨中甲萘威、灭多威、涕灭威、残杀威、克百威等 5 种主要氨基甲酸酯类农药的分析方法,以期对刺梨相关质量标准的建立提供参考。

### 1 材料

TSQ QUANTUM ULTRA 型高效液相-三重四级杆串联质谱仪(美国 Thermo Fisher 公司),T-25 型匀浆机(德国 IKA 公司),Milli-Q Advantage A10 型超纯水机(德国 MILLIPORE 公司),R2000 型旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器有限公司),TDL-40B 型离心机(上海 Anke 公司),JNC N-EVAPTM112 型氮吹仪(美国 Organomation 公司),HY-4 型调速多用振荡器(金坛市医疗仪器厂),3 mL/200 mg 氨基固相萃取柱(美国 Agilent 公司),WinSPE-12 型固相萃取仪(北京莱伯泰科仪器有限公司),SK8210LHC 型超声波清洗器(上海科导超声仪器有限公司)。

甲醇、乙腈(色谱纯,美国 Merck 公司),氯化钠、甲酸、二氯甲烷(分析纯,国药集团化学试剂有限公司),醋酸铵(优级纯,德国 Sigma 公司)。

标准物质:甲萘威、灭多威、涕灭威、残杀威、克百威 5 种氨基甲酸酯类农药对照品,购自农业部环境保护科研监测所,质量浓度 100 mg·L<sup>-1</sup>。

刺梨样品 2013 年 5 月购于贵阳市中医学院中药材市场,挑选去除杂质和烂果,50 °C 温度干燥 8 h,粉碎,过 40 目筛制得粗粉,充分混匀后冷冻保藏,累计采集样品 15 份。

### 2 方法与结果

2.1 样品前处理 称取粉碎刺梨样品 5.0 g(精确

至 0.01 g)于 50 mL 离心管中,加入 8 mL 超纯水,复水 10 min。再加入乙腈 25.0 mL,匀浆提取 3 min,加入氯化钠 5.0 g 置离心管中振摇 1 min,以 4 000 r·min<sup>-1</sup> 离心 4 min,吸取上层乙腈相 10.0 mL 35 °C 水浴中旋转蒸发近干,加入二氯甲烷-甲醇溶液(98:2) 5.0 mL 溶解,待净化。

2.2 样品净化 将 10.0 mL 二氯甲烷-甲醇溶液(98:2)预洗氨基固相萃取柱,待溶剂液面流至吸附填料表面时,立即加入样品浓缩液,用 20 mL 离心管收集洗脱液,用二氯甲烷-甲醇溶液(98:2) 2.0 mL 洗涤圆底烧瓶,转移至固相萃取柱,重复 2 次。将收集的洗脱液置氮吹仪上,氮吹蒸发至近干,用甲醇-0.01 mol·L<sup>-1</sup> 醋酸铵的混合溶液(60:40)定容至 2.0 mL,0.2 μm 滤膜过滤,待测。

### 2.3 HPLC-MS-MS 分析条件

2.3.1 色谱条件 Thermo Hypersil GOLD 色谱柱(2.1 mm × 100 mm,1.9 μm),柱温 20 °C,流速 300 μL·min<sup>-1</sup>,进样量 10 μL,流动相 0.1% 甲酸水(A)-0.1% 甲酸乙腈(B)梯度洗脱(0 ~ 1.8 min,90% A;1.8 ~ 2 min,90% ~ 10% A;2 ~ 5 min,10% A;5 ~ 5.1 min,10% ~ 90% A;5.1 ~ 8 min,90% A)。

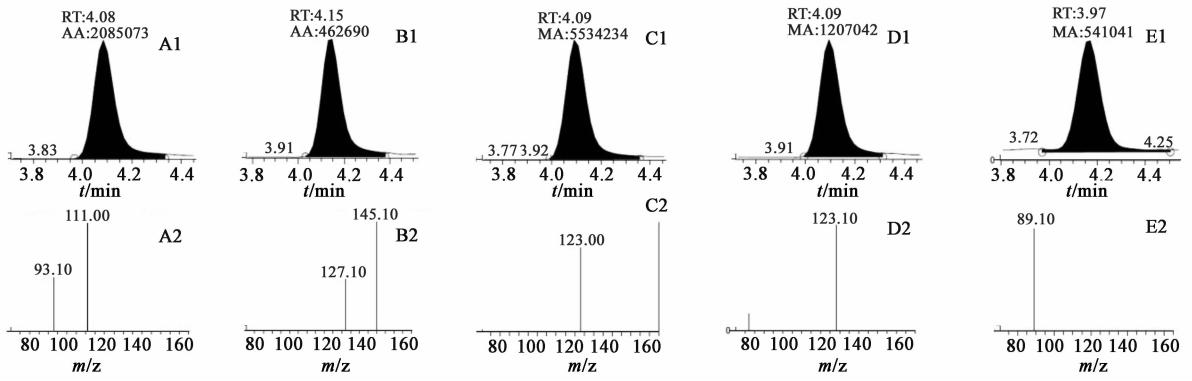
2.3.2 质谱条件 电喷雾电离源(ESI),正离子模式,多反应监测(MRM),喷雾电压 3.0 kV,鞘气压力 40 psi,碰撞气压力 1.5 mTorr,离子传输管温度 350 °C,蒸发温度 250 °C。在分析过程中,以离子对(母离子和子离子)信息比较和保留时间进行定性分析;以母离子和响应高的子离子通道进行定量分析,具体 MRM 离子参数见表 1,典型 MRM 离子流图见图 1。

表 1 氨基甲酸酯类农药的 MRM 条件

农药名称	母离子 /(m/z)	子离子 /(m/z)	保留时间 /min
克百威	222.1	123.0 <sup>1)</sup>	4.09
残杀威	210.1	93.10,111.00 <sup>1)</sup>	4.15
涕灭威	213.1	89.10 <sup>(1)</sup>	3.97
甲萘威	202.2	127.10,145.10 <sup>(1)</sup>	4.15
灭多威	165.1	123.10 <sup>(1)</sup>	4.09

注: <sup>1)</sup> 指定量离子,扫描模式均为正离子模式。

2.4 标准曲线与线性范围 准确移取各农药标准溶液,配制成 1 mg·L<sup>-1</sup> 的农药混合标准储备液,冰箱避光保存备用,使用前将混合标准储备液用流动相稀释成质量浓度为 0.5,10,20,50,100 μg·L<sup>-1</sup> 的系列溶液,按 2.3.1 和 2.3.2 项下方法进行测试,以



A. 残杀威; B. 涕灭威; C. 灭多威; D. 甲萘威; E. 克百威

图1 5种氨基甲酸酯农药的多反应监测总离子流

峰面积  $Y$  和浓度  $X$  进行回归分析,结果见表2。

表2 5种氨基甲酸酯农药的标准曲线与相关系数

农药名称	线性方程	$r$	线性范围/ $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$
克百威	$Y = 32\,532.3 + 55\,385.5X$	0.999 7	0.5 ~ 100
残杀威	$Y = 16\,075.2 + 20\,769.3X$	0.999 8	0.5 ~ 100
涕灭威	$Y = 40\,945.7 + 5\,029.09X$	0.999 6	5.0 ~ 100
甲萘威	$Y = 5\,930.87 + 4\,602.48X$	0.999 3	0.5 ~ 100
灭多威	$Y = 15\,979.9 + 12\,015.4$	0.999 3	0.5 ~ 100

**2.5 精密度试验** 取  $10\ \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  混标溶液,按 2.4 项条件连续进样 6 次,5 种农药峰面积 RSD 在 1.8% ~ 3.9%,表明本液质联用仪精密度良好。

**2.6 回收率试验** 称取 9 份刺梨样品(经测定不含 5 种氨基甲酸酯类农药),分成 3 组,添加高、中、低 3 个水平的  $10\ \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  标准溶液,按 2.2 项方法处理,2.3 项方法测定。计算回收率。结果见表 3。加样回收率在 77.9% ~ 107.2%,RSD 在 4.5% ~ 13.2%,表明前处理方法与测定条件良好,满足农药残留分析要求。

**2.7 样品检测** 按本实验建立的方法,对市售 15 份刺梨样品中 5 种氨基甲酸酯农药残留进行了测定,未检测到阳性样本。

### 3 讨论

**3.1 样品匀浆前的复水处理** 乙腈是目前农药残留分析中常用的提取剂,适用于一般植物源样品中农药的提取,但使用时需考虑样品基质的影响<sup>[11]</sup>。从基质组成特点的角度来看,本实验中刺梨具有含糖量高的特点,从而导致乙腈对其组织渗透力较差,影响对目标农药的提取效率。因此,宜考虑使用乙腈提取前,加入一定数量超纯水对样品进行复水,以保证匀浆时糖类从组织中溶解出来,提高乙腈对农药的提取效果。前期实验中,分别考察了 1.0, 1.5,

表3 5种氨基甲酸酯农药加样回收率试验

化合物	添加量 /ng	平均回收率 /%	RSD /%
残杀威	10	77.9	13.2
	50	92.8	8.6
	100	94.5	7.3
涕灭威	10	83.9	12.7
	50	90.4	7.7
	100	92.6	5.8
灭多威	10	86.0	7.5
	50	107.2	6.0
	100	106.1	8.7
甲萘威	10	87.9	9.2
	50	89.9	6.4
	100	88.2	4.5
克百威	10	88.6	11.4
	50	91.6	7.7
	100	93.8	6.9

2.5 倍量超纯水的复水效果,加样回收实验表明本研究通过在 5 g 刺梨样品中分别加入 5.0, 7.5, 10.0 mL 水,各倍量间无显著差异,考虑实际操作可行性,选择加水量为 8.0 mL。

**3.2 固相萃取小柱的选择** 商品化的固相萃取小柱在痕量化学品的富集应用中正得到日益广泛使用,并展现出良好的应用前景<sup>[12]</sup>。已经报道适用于氨基甲酸酯类农药净化的填料包括  $\text{C}_{18}^{[13]}$ 、中性氧化铝<sup>[14]</sup>等,本实验选用的填料为  $\text{NH}_2$ ,其官能团主要以氢键和离子交换为主,此型填料在萃取极性较强的化学品,如氨基甲酸酯和硫脲等农药时,可表现出比  $\text{C}_8$  或  $\text{C}_{18}$  更高更稳定的回收率<sup>[15]</sup>。在具体选用时,应充分考虑药材的水分、油脂、蛋白和多糖等干

扰物质的高低,才能有效确保前处理效果<sup>[16]</sup>。

**3.3 超高效液相色谱的应用前景** 本实验目标农药的分离在填料粒径仅为 1.9  $\mu\text{m}$  的超高效液相色谱柱上完成,结果表明,与常规 5.0  $\mu\text{m}$  填料相比<sup>[13-14]</sup>,分析时间缩短一半以上,在批量测试中可有效提高检测效率;超高效液相可增加柱上峰容量,提供更快更灵敏的 HPLC-MS-MS 分析能力。

### [参考文献]

[1] 刘丽萍,黄聪,孙炳正,等. GAP 种植基地刺梨总黄酮的含量测定[J]. 微量元素与健康研究,2013,30(1):29.

[2] 张晓玲,瞿伟菁,孙斌,等. 刺梨黄酮的体外抗氧化作用[J]. 天然产物研究与开发,2005,17(4):396.

[3] 胡文尧,白焰,韩宪法,等. 刺梨抗动脉粥样硬化作用的研究[J]. 中国药理学杂志,1994,29(9):529.

[4] 戴支凯,余丽梅,杨小生,等. 刺梨提取物 CL 对胃癌细胞的抑制作用[J]. 贵州医药,2005,29(9):786.

[5] 张晓玲,瞿伟菁,孙斌,等. 刺梨黄酮对实验性糖尿病的预防作用[J]. 营养学报,2004,26(6):474.

[6] 刘毅锋,张娟,李华. 氨基甲酸酯类化合物的应用[J]. 化学通报,2003(3):167.

[7] 胡芹芹,李娜,张华,等. ELISA 及电化学法检测蒿头氨基甲酸酯类农药残留[J]. 农药,2009,48(5):352.

[8] 赵立峰,徐陆妹. 双毛细管气相色谱法测定果蔬中有机磷及氨基甲酸酯类农药残留[J]. 理化检验:化学分册,2005,41(1):26.

[9] 王建,贾斌,林秋萍,等. 气相色谱-质谱联用法确证蔬菜中多种农药残留[J]. 理化检验:化学分册,2006,42(7):533.

[10] 文君,孙成均,缪红. 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,2007,17(6):964.

[11] 胡一晨,万丽,杨芳,等. 中药中农药残留的限量标准及相关研究现状[J]. 中药与临床,2013,3(1):48.

[12] 李光庆,马国辉. 固相萃取在食品痕量残留和污染分析中的应用[J]. 色谱,2011,29(7):606.

[13] 陆梅,苏跃英. 固相萃取/高效液相色谱法测定水中6种氨基甲酸酯农药[J]. 仪器仪表与检测分析,2006(4):34.

[14] 陈笑梅,胡贞贞,刘海山,等. 高效液相色谱-串联质谱法测定粮谷中9种氨基甲酸酯类农药残留[J]. 分析化学,2007,35(1):106.

[15] 彭铭. 色谱法在中药农药残留量分析中的应用[J]. 国际医药卫生导报,2006,12(16):127.

[16] 薛健,金红宇,田金改,等. 中药农药残留问题研究与思考[J]. 中草药,2007,38(10):1578.

[责任编辑 顾雪竹]

## 欢迎订阅 2015 年度《中国实验方剂学杂志》

《中国实验方剂学杂志》由国家中医药管理局主管,中国中医科学院中药研究所和中国中西医结合学会中药专业委员会主办的学术刊物,已成为“中国中文核心期刊”、“中国科技论文统计源期刊(2013年扩刊版)”、“中国学术期刊综合评价数据库来源”期刊、“中国期刊网、中国学术期刊光盘版”全文收录期刊、美国《化学文摘》统计源期刊;并被评为“中国中医药优秀期刊”及“中国学术期刊优秀期刊”。本刊创建于1995年10月,主要设置栏目:学术专论、综述、工艺与制剂、化学与分析、药物代谢、药理、毒理、临床、数据挖掘等。本刊的读者对象是从事中医药,尤其是方剂教学、科研、医疗、生产的高、中级工作者,以及中医药院校的高年级学生等。

本刊现为半月刊,16开本,242页,标准刊号:ISSN1005-9903;CN11-3495/R。每期定价35元,全年840元。国内外公开发行,国内由北京市报刊发行局办理总发行,邮发代号:2-417;国外由中国国际图书贸易总公司办理发行,代号:SM4655,欢迎订阅。本刊编辑部也办理邮购。地址:北京市东直门内南小街16号,《中国实验方剂学杂志》编辑部,邮编:100700,联系电话:(010)84076882,电子邮件:syfjx\_2010@188.com,网址:www.syfjxzz.com。