

# 超高效液相色谱-串联质谱检测农产品中阿维菌素残留方法研究

张艳丽, 王丽娟

(鹤壁市农产品检验检测中心, 河南 鹤壁 458030)

**摘要:** 基于超高效液相色谱-串联质谱 (UHPLC-MS/MS) 建立定量分析农产品中阿维菌素残留的方法, 对仪器条件进行优化, 解决检出限高、灵敏度低、标线性差等问题。结果表明, 阿维菌素在 0.005mg/L~0.20mg/L 范围内线性关系良好, 相关系数  $R > 0.9999$ 。方法检出限为 0.01mg/kg。农产品样品在低、中、高 3 种加标质量浓度下, 平均回收率为 80%~105%, 相对标准偏差 (RSD) 为 RSD1.0~8.5%。方法的准确度和精密度符合农药残留测定。该方法灵敏度高, 准确性高, 重现性好, 实现了农产品中阿维菌素的分析。

**关键词:** 超高效液相色谱-串联质谱;阿维菌素;仪器条件优化;农产品

## Determination of avermectin residues in agricultural products by ultra high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry

ZHANG Yanli, WANG Lijuan

(Hebi agricultural products inspection and testing center, Henan University, Hebi 458030)

**Abstract:** Based on ultra high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry (uhplc-ms/ms), a method for quantitative analysis of avermectin residues in agricultural products was established, and the instrument conditions were optimized to solve the problems of high detection limit, low sensitivity and poor linearity of standard curve. The results showed that avermectin had a good linear relationship in the range of 0.005mg/l~0.20mg/l, and the correlation coefficient was 0.9999. The detection limit of the method is 0.01mg/kg. Under the three spiked mass concentrations of low, medium and high, the average recovery of agricultural products is 80%~105%, and the relative standard deviation (RSD) is rsd1.0~8.5%. The accuracy and precision of the method are consistent with the determination of pesticide residues. The method has high sensitivity, high accuracy and good reproducibility, and realizes the analysis of Avermectin in agricultural products.

**Keywords:** ultra high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry; Avermectin; Optimization of instrument conditions; agriculture products.

阿维菌素是一种新型类广谱性杀虫杀螨剂，由阿维链霉素经液体发酵加工而成，具有高效、广谱、有效期长、不易产生抗药性等特点，已经作为高毒有机磷农药的替代品而广泛应用。目前阿维菌素已广泛用于要水果样品中果树（苹果、梨、桃）、蔬菜（黄瓜、番茄）有害生物的防治，GB 2763-2021《食品安全国家标准 食品中农药最大残留限量》中阿维菌素的残留限量(MRL)要求很高，规定其在柑桔、梨和黄瓜中的 MRL 为 0.02mg/kg，叶菜和豆中为 0.05mg/kg。目前阿维菌素的检测方法主要有高效液相色谱法(HPLC)<sup>[1-5]</sup>、酶联免疫法(ELISA)、液质联用法(LC-MS)<sup>[6-10]</sup>等。近几年液相色谱质谱法应用日益广泛，它可以提高目标物质的灵敏度以及回收率，缩短进样时间，提高检测效率。但在实际工作中，阿维菌素的响应值低、灵敏度低、标准曲线线性差等问题一直存在，本文应用超高效液相色谱-串联质谱仪(UPLC-MS/MS)对阿维菌素的检测条件进行色谱、质谱条件的优化，可以在检测农产品中阿维菌素时，得到快速、准确的检测方法。

## 1 实验部分

### 1.1 仪器与试剂

AB Sciex4500 高效液相色谱-串联质谱仪（配有电喷雾电离（ESI）源，美国 AB SCIEX 公司）；GL-21M 高速冷冻离心机(湖南湘仪)；混匀器（德国 heidolph 公司）；涡旋混匀器（德国 IKA 公司）。

阿维菌素（100ug/mL）甲醇作为溶剂，购于农业部环境保护科研监测所；乙腈（HPLC 级，上海安谱公司）；甲醇（HPLC 级，美国 Merck 公司）。甲酸（LCMS，美国 Fisher 公司）；甲酸铵（LCMS，美国 Fisher 公司）；十八烷基键合硅胶（C18）、N-丙基乙二胺（PSA）、无水 MgSO<sub>4</sub>、NaCl 均为分析纯(深圳逗点生物)。

### 1.2 标准溶液的配制

精确称取一定量的阿维菌素标液，用甲醇溶解后定容，配制成 2.0ug/mL 贮备溶液，于 -20℃避光储存。

### 1.3 前处理方法

称取 10g(精确至 0.01g)试样于 50mL 塑料离心管中，加入 10mL 乙腈及 1 颗陶瓷均质子，剧烈振荡 1min.加入 4g 无水硫酸镁、1g 氯化钠、1g 柠檬酸钠二水合物、0.5g 柠檬酸二钠盐倍半水合物，剧烈振荡 1min 后 4200r/min 离心 5min。吸取 8mL 上清液至内含除水剂和净化材料的塑料离心管中；对于颜色较深的试样，离心管中另加入 GCB,涡旋混匀 1min。4200r/min 离心 5min,吸取上清液过 0.22μm 有机微孔滤膜后上机测定。

## 1.4 仪器条件条件

### (1) 色谱条件

色谱柱: Altantis T3 柱 (150mm×2.1mm, 3.0μm); 柱温: 40°C; 流动相: A 相为水 (含 0.005%甲酸 (v/v)和 2mmol/L 甲酸铵), B 相为甲醇。柱流速为 0.40mL/min。梯度洗脱程序: 0~2.0min, 90%A; 5.0~12min, 5%A; 12.1~13min, 90%A; 流速: 0.4mL/min; 进样量: 1μL。

### (2) 质谱条件

离子源: ESI; 扫描方式: 正离子扫描; 扫描方式: 多反应监测 (MRM) 模式; 电喷雾电压: 4500V; 雾化气压力: 50psi; 气帘气压力: 30psi; 辅助加热气: 60psi; 离子源温度: 300°C; 碰撞气压力: 9psi。

## 2 结果与讨论

### 2.1 样品前处理的优化

本实验采用 GB23200.121《食品安全国家标准植物源性食品中 331 种农药及其代谢物残留量的测定 液相色谱-质谱联用法》, 以乙腈作为提取溶剂, 将目标物质、色素等有机物质提出, 然后采用饱和盐进行层析分层, 用吸附剂进行净化。

### 2.2 色谱条件的优化

#### (1) 色谱柱选择

分别用 Shimadzu C18(75mm×2.0mm,1.6μm)、Agilent EC-C18(100mm×3.0mm, 2.7μm)、Altantis T3(150mm×2.1mm,3μm)等 3 种液相色谱柱对阿维菌素进行响应值与分离效果的对比, 所有色谱柱均能出峰, 采用 Altantis T3 和 Shimadzu C18 色谱柱时峰形对称性好, 半峰宽窄、且出峰时间相同, 但采用 Altantis T3 色谱柱时峰面积明显高于 Shimadzu C18 色谱柱。因此最终选择 Altantis T3 色谱柱进行分离。

#### (2) 流动相选择

流动相条件是影响目标化合物的色谱分离和仪器响应的一个重要方面, 根据阿维菌素的性质, 比较了甲醇和乙腈两种有机相, 结果表明, 甲醇是质子性溶剂, 更易离子化,  $[M+NH_4]^+$  峰的响应值要高于乙腈流动相, 所以在本实验中选用甲醇和水作为流动相。在水相中加入甲酸铵和甲酸等试剂, 是改善色谱峰形、提高仪器响应值和离子化率的常用手段, 通常采用酸性流动相有利于在正离子模式下进行质谱检测, 试验考察了不同浓度的甲酸与甲酸铵溶液与甲醇组合, 发现随着甲酸铵浓度含量增大, 阿维菌素的响应值也在增强, 若甲酸铵浓度超过

2mmol/L 时，响应值开始降低。因此，最终选择 0.005%甲酸加 2mmol/L 甲酸铵作为水相。优化后的液相条件下，可得到标准图谱如图 1。

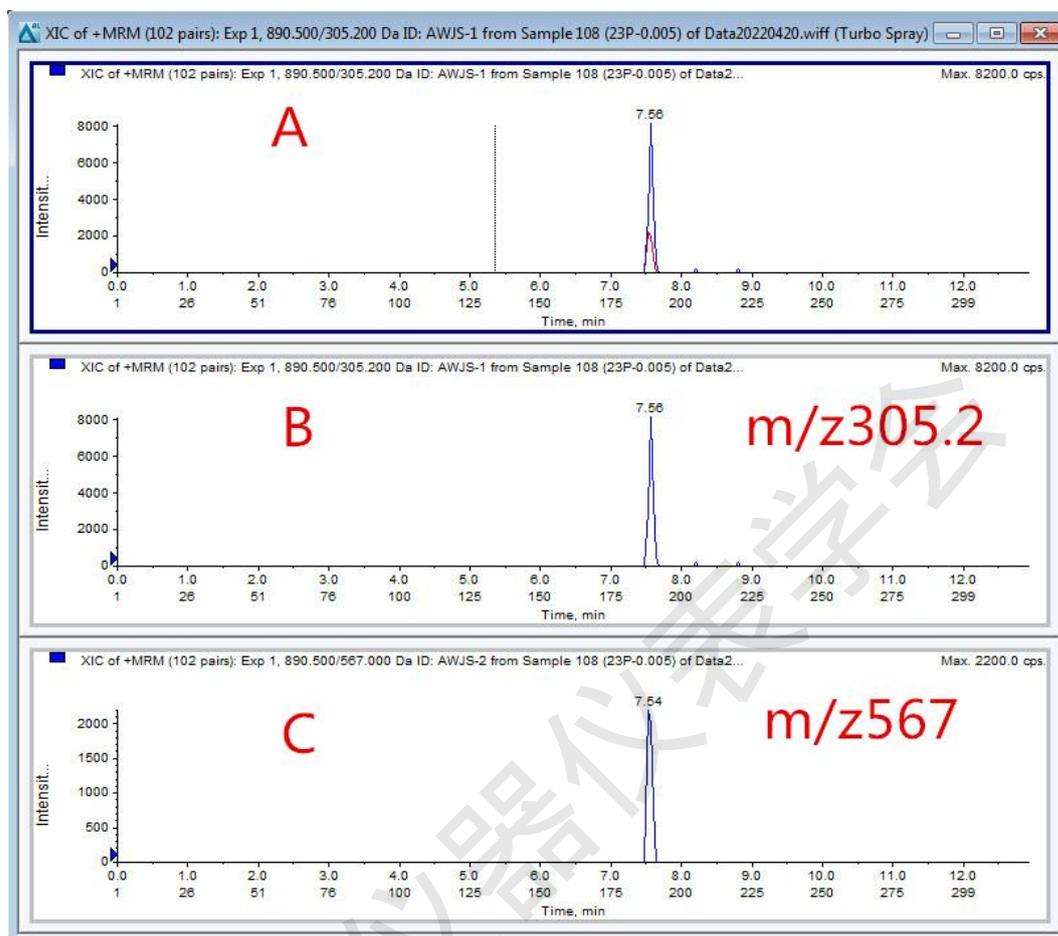


图 1 阿维菌素标液的 MRM 总离子及选择离子的离子流色谱图 (10.0g/L)

Fig.1 MRM chromatograms of abamectin(10.0g/L)

- A: 总离子图谱 (Chromatogram of total ion); B: 定量离子图谱 (Chromatogram of quantitative ion);  
C: 定性离子图谱 (Chromatogram of qualitative ion)

## 2.3 质谱条件的选择

### (1) 检测离子的选择

阿维菌素的分子式是  $C_{48}H_{72}O_{14}$ , 理论分子量为 872.4921。采用母离子扫描(MS Scan), 获得一级质谱图, 通过分子质量确定阿维菌素多以加合离子  $[M+NH_4]^+$ 、 $[M+Na]^+$ 、 $[M+H]^+$  形式存在, 本实验选择离子丰度极强的  $[M+NH_4]^+$  ( $m/z$ 890.5) 作为母离子。然后, 优化毛细管电压等参数, 使母离子强度达到最高。

选择母离子后, 进行子离子扫描(Daughter Scan), 获得二级质谱图, 得到 305.2、567 和 145.1。进行 MRM 多反应监测扫描, 再次优化离子源温度、脱溶剂气温度等参数, 使其离

子化效率达到最佳。最终，本实验选择丰度最强、受干扰小的 890.5/567 作为定性离子对，而 890.5/305.2 作为定量离子对。阿维菌素检测的质谱参数见表 1。

表 1 阿维菌素检测的质谱条件

化合物	母离子/ (m/z)	保留时间 /min	产物离子 /(m/z)	碰撞能量 /eV	去簇电压 /V
阿维菌素	890.5	7.56	305.2	32	65
			567	19	65

#### (2) 离子源温度的选择

考察了电喷雾离子源 (ESI<sup>+</sup>)对阿维菌素的灵敏度影响，结果表明：ESI<sup>+</sup>源受离子源温度影响比较明显，阿维菌素用的[M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>峰作母离子，温度过高或过低都会抑制目标物离子化，分别用 300°C、350°C、400°C离子源温度作了试验，由表 2 可知：随着离子源温度的升高，响应值越低，当离子源温度为 300°C时，灵敏度最高。

表 2 不同离子源温度的灵敏度

化合物	母离子/ (m/z)	保留时 间/min	产物离子 /(m/z)	离子源温度 /°C	响应强度/%
阿维菌素	890.5	7.56	305.2	300	3.1e <sup>4</sup>
			567		1.1e <sup>4</sup>
阿维菌素	890.5	7.56	305.2	350	2.1e <sup>4</sup>
			567		6000
阿维菌素	890.5	7.56	305.2	400	2.0e <sup>4</sup>
			567		5000

## 2.4 标准曲线、线性范围及检出限

分别用甲醇配制含量分别为 0.005mg/L、0.01mg/L、0.05mg/L、0.1mg/L、0.2mg/L 的阿维菌素标准溶液，在上述实验条件下进样 1.0μL，以峰面积为纵坐标，浓度为横坐标绘制线性关系曲线，结果表明阿维菌素标准溶液与相对应峰面积呈现良好的线性关系，其线性回归方程： $A=6.82989e6+11635.39890$ ， $R=0.99913$ 。

按上述样品前处理方法及液相色谱检测条件分析得出阿维菌素在农产品样品中的定量限为 0.01mg/kg。

## 2.5 方法准确度及精密度

选取不同的果蔬、食用菌等农产品，进行添加水平为 0.01mg/kg、0.05mg/kg、0.10mg/kg 等加标回收试验，添加回收率为 80%~102.5%，RSD1.5~8.5%，见表 3，其结果满足农药残留检测回收率和相对标准偏差的分析要求。

表 3 不同农产品样品中阿维菌素添加回收测定结果 (n=3)

样品名称	0.01mg/kg		0.05mg/kg		0.10mg/kg	
	回收率/ (%)	RSD/ (%)	回收率/ (%)	RSD/ (%)	回收率/ (%)	RSD/ (%)
西葫芦	85.6	5.1	89.5	6.0	91.4	1.5
西红柿	92.5	3.5	94.6	2.2	98.1	3.4
芹菜	90.1	4.3	92.1	5.6	102.5	7.8
桔子	86.1	6.5	90.3	7.1	92.9	5.9
苹果	82.3	5.8	87.8	4.6	90.1	2.2
葡萄	95.4	3.6	95.8	2.0	91.8	7.9

### 3 结论

本研究对液相质谱法检测农产品中阿维菌素残留的仪器条件，进行了优化，解决了阿维菌素检出限高、灵敏度低、标准曲线线性差等问题，优化后的仪器条件方法检出限符合标准要求，阿维菌素的灵敏度高，在浓度 0.005mg/L~0.20mg/L 范围内有良好的线性关系；添加回收率和相对标准偏差均符合分析的要求，是比较理想的阿维菌素残留量的分析方法。

#### 参考文献:

- [1] 李晶, 董丰收, 刘新刚. 高效液相色谱检测梨中阿维菌素残留方法研究[J]. 农药科学与管理, 2008, 29(2):17-22.
- [2] 谢显传, 张少华, 王冬生, 等. 柱前行生高效液相色谱法测定果蔬产品阿维菌素及其有毒代谢物的残留量[J]. 中国农业科学, 2005, 38(11):2254-2260.
- [3] 梁振益, 李嘉诚, 罗盛旭, 等. 高效液相色谱法检测水果中阿维菌素残留量[J]. 现代农药, 2005, 4(4):20-22.
- [4] 张儒令, 安凤颖, 胡德禹, 等. 高效液相色谱法检测菜豆中阿维菌素残留量[J]. 现代农业科技, 2020, (06):106-108.
- [5] 刘桂伶, 李婷婷. 高效液相色谱法检测 8 种果蔬中阿维菌素残留量的分析方法[J]. 新疆

农业科技, 2020,(01):38-39.

- [6] 李增梅, 邓立刚, 赵涉及. 超高效液相色谱串联质谱法测定苹果和土壤中阿维菌素的残留量[J]. 分析化学, 2010, (10):1505-1509.
- [7] 林涛, 邵金良, 刘兴勇, 等. QuEChERS-超高效液相色谱-串联质谱测定蔬菜中 41 种农药残留[J]. 色谱, 2015, 33(3):235-241.
- [8] 王连珠, 黄小燕, 陈游, 等. QuEChERS 前处理-液相色谱-串联质谱测定果蔬中 18 种弱酸性农药残留[J]. 分析测试学报, 2014, 33(10):1102-1108.
- [9] 李欣, 孙素群, 张卫锋, 等. QuEChERS-液相色谱-串联质谱测定蔬菜中 56 种农药残留[J]. 现代食品科技, 2017, 33(10):245-253,177.
- [10] 李瑞雪, 王晶蕾, 龚慧. 超高效液相色谱-串联质谱测定蔬菜水果中阿维菌素残留量[J]. 现代食品, 2020, (22):180-182,189.

中国仪器仪表学报