

# 超高效液相色谱法测定甘蓝和橙子中的阿维菌素残留

覃国新, 劳水兵, 莫仁甫, 周其峰, 何洁, 杨玉霞, 罗丽红, 李焘

(广西壮族自治区农业科学院农产品质量安全与检测技术研究所, 农业部甘蔗品质监督检验测试中心(南宁), 南宁 530007)

**摘要:** 本研究建立了甘蓝和橙子中阿维菌素农药残留的超高效液相色谱紫外(UPLC-UV)检测方法。样品经乙腈提取, 混合使用乙二胺-*N*-丙基硅烷(PSA)和 $C_{18}$ 基质分散净化剂进行净化, 采用ACQUITY UPLC BEH  $C_{18}$ 色谱柱(2.1×100 mm, 1.7 μm), 以乙腈:水(V/V=70:30)为流动相, 流速0.25 mL/min, 柱温: 35 °C, 紫外检测波长: 245 nm。阿维菌素在甘蓝和橙子样品中存在程度不同的基质效应, 故采用空白基质匹配的校准曲线外标法定量。结果表明, 阿维菌素在0.25~10 mg/L范围内具有良好的线性关系, 相关系数均大于0.9999。在0.05~0.5 mg/kg范围内, 平均添加回收率为83.0%~100.2%, 相对标准偏差为1.17%~1.30%。阿维菌素在甘蓝和橙子中的检出限(LOD)分别为0.0109和0.0160 mg/kg。该方法操作简单、准确、灵敏, 可用于甘蓝和橙子中阿维菌素的分析。

**关键词:** 超高效液相色谱; 阿维菌素; QuEChERS; 甘蓝; 橙子

文章编号: 1673-9078(2018)04-227-231

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2018.04.034

## Determination of Abamectin Residues in Cabbage and Orange by Ultra Performance Liquid Chromatography

QIN Guo-xin, LAO Shui-bing, MO Ren-fu, ZHOU Qi-feng, HE Jie, YANG Yu-xia, LUO Li-hong, LI Tao

(Institute for Agricultural Product Quality Safety and Testing Technology, Guangxi Academy of Agricultural Sciences, Quality Inspection and Test Center for Sugarcane and Its Product, China Ministry of Agriculture (Nanning), Nanning 530007, China)

**Abstract:** A determination method for abamectin residues in cabbage and orange was established in this study by using ultra high performance liquid chromatography-ultraviolet (UPLC-UV). Samples were extracted with acetonitrile, and mixed with ethylenediamine-*N*-propylsilane (PSA) and  $C_{18}$  matrix dispersion scavenger for purification by using a ACQUITY UPLC BEH  $C_{18}$  column (2.1×100 mm, 1.7 μm). The column temperature was set as 35 °C, the mobile phase was composed of acetonitrile-water (70:30, V/V) with a flow rate of 0.25 mL/min, and the ultraviolet detection wavelength was set as 245 nm. Abamectin had different matrix effects on cabbage and orange samples and therefore, external standard of the blank matrix-matched calibration curves was used for quantification. The results showed that abamectin had good linear relationship in the range of 0.25~10 mg/L, and the correlation coefficients were all more than 0.9999. In the range of 0.05~0.5 mg/kg, the average addition recovery was 83.0%~100.2%, and the relative standard deviation (RSD) was 1.17%~1.30%. The limits of detection (LOD) of abamectin in cabbage and orange (S/N=3) were 0.0109 mg/kg and 0.0160 mg/kg, respectively. The proposed method was simple, accurate and sensitive, which could be used for the analysis of abamectin in cabbage and orange.

**Key words:** ultra performance liquid chromatography; abamectin; QuEChERS; cabbage; orange

收稿日期: 2017-09-20

基金项目: 国家自然科学基金地区基金项目(21567007); 广西自然科学基金面上项目(2017GXNSFAA198231); 广西作物病虫害生物学重点实验室项目(14-045-50-KF-6); 广西农业科学院科技发展基金项目(桂农科2018JZ09); 广西农业科学院科技发展基金项目(桂农科2017JM63)

作者简介: 覃国新(1982-), 男, 工程师, 研究方向: 分析化学

通讯作者: 何洁(1984-), 女, 高级工程师, 研究方向: 食品科学

阿维菌素(abamectin)是一类十六元大环内酯类化合物,对螨类和昆虫具有胃毒和触杀作用,是一种广谱、高效的抗生素类杀虫杀螨剂,被广泛应用于蔬菜、水果生产中。然而,由于阿维菌素属于高毒农药,在农产品上残留量过高将直接影响人们的身体健康,甚至可能会引起食物中毒<sup>[1]</sup>。因此,世界各国均对水果和蔬菜中的阿维菌素残留量有严格的限量规定,如欧盟制定蔬菜中阿维菌素最高残留量为0.010 mg/kg,我国制定阿维菌素在柑橘、梨、黄瓜、豇豆及叶菜中的最大残留量为0.020~0.050 mg/kg,食品法典委员会规定阿维菌素在梨、苹果和瓜等产品中的最大残留限量为0.010 mg/kg,美国和日本分别规定阿维菌素在苹果、梨、黄瓜和稻米中的最大残留限量为0.005~0.02 mg/kg和0.01~0.02 mg/kg。据文献报道,目前阿维菌素的检测方法主要有高效液相色谱法<sup>[2,3]</sup>、液相色谱-质谱联用法<sup>[4-6]</sup>等。蔬菜和水果中农药残留的监管面临着农药种类繁多、基质复杂和检测时效性要求高等比较突出的问题,因此,建立简单、快速、准确的方法测定蔬菜和水果中农药残留极其重要。

QuEChERS前处理方法是2003年由Anastassiades等开发并用于农药残留分析,因其具有简单、快速、有效、可靠和安全等特点而受到关注。目前,蔬菜和水果中农药残留一般采用QuEChERS方法进行前处理,高效液相色谱-串联质谱进行检测<sup>[7-11]</sup>。而基于QuEChERS前处理超供液相色谱检测甘蓝和橙子中阿维菌素农药残留未见有报道,本文在前人研究的基础上,优化QuEChERS基质固相分散萃取的条件,考察了样品基质效应,建立了超高效液相色谱紫外检测法测定甘蓝和橙子中阿维菌素残留,并用于检测实际样品,结果令人满意。

## 1 实验部分

### 1.1 材料与试剂

新鲜甘蓝和橙子(购于本地市场),取可食部分,用组织捣碎机粉碎,制成待测样品,备用。

标准品阿维菌素(Abamectin)(纯度≥96%,*m/m*),上海市农药研究所有限公司;乙腈,色谱纯,赛默飞世尔(中国)科技有限公司;氯化钠,分析纯,国药集团化学试剂上海有限公司;无水硫酸镁,分析纯,天津市光复精细化工研究所;十八烷基键合相硅胶( $C_{18}$ )净化剂、乙二胺-N-丙基硅烷(PSA)净化剂、石墨化炭黑(Carb)净化剂,北京振翔科技有限公司;QuEChERS分散固相萃取管(2.5 mL离心管中装25 mg PSA、150 mg无水MgSO<sub>4</sub>)、QuEChERS分散固相萃

取管(2.5 mL离心管中装50 mg  $C_{18}$ 、150 mg无水MgSO<sub>4</sub>)、QuEChERS分散固相萃取管(2.5 mL离心管中装25 mg Carb、150 mg无水MgSO<sub>4</sub>)、QuEChERS分散固相萃取管(2.5 mL离心管中装25 mg PSA、50 mg  $C_{18}$ 、150 mg无水MgSO<sub>4</sub>)、QuEChERS分散固相萃取管(2.5 mL离心管中装25 mg PSA、25 mg Carb、150 mg无水MgSO<sub>4</sub>)。

Acquity uplc型超高效液相色谱仪(UPLC)配紫外检测器,美国Waters公司;DS-1型高速组织捣碎机,上海标模仪器厂;高速分散均质机,上海标模模型厂;LD5-2A型低速离心机,北京京立离心机有限公司;RE5-2A型旋转蒸发器,上海亚荣生化仪器厂;SE812J数控氮吹仪,北京科伟永兴仪器有限公司。

### 1.2 标准溶液的配制

准确称取适量阿维菌素标准品,用乙腈配置成浓度为1.0 mg/mL的标准储备液,准确吸取标准储备液,用乙腈逐级稀释,得到0.1、0.2、0.5、1、5、10 μg/mL的系列纯溶剂标准工作溶液;取空白样品按(1.3)前处理过程进行处理,得到空白基质提取净化液,用此空白基质净化液配制适当浓度的基质标准工作液。

### 1.3 样品处理

提取:准确称取20.00 g试样(精确至0.01 g)于100 mL离心管中,加入40.0 mL乙腈,用高速匀浆机于12000 r/min匀浆提取1 min后,加入6 g氯化钠,继续匀浆提取1 min,4000 r/min离心5 min。吸取上清液20.0 mL待净化。

净化:将20.0 mL提取液于50 °C水浴真空旋转蒸发近干,用氮气吹干后,2.0 mL乙腈溶解残渣,转移至装有25 mg PSA、50 mg  $C_{18}$ 、150 mg无水MgSO<sub>4</sub>的离心管中振摇2 min,4000 r/min离心5 min,取上清液过0.22 μm有机微孔滤膜,待UPLC测定。

### 1.4 超高效液相色谱条件

ACQUITY UPLC BEH  $C_{18}$  色谱柱(2.1×100 mm, 1.7 μm, 美国Waters公司);柱温:35 °C;流速0.25 mL/min;进样量4.0 μL。流动相:乙腈:水(V/V=70:30),等度洗脱5 min,检测波长:245 nm。

## 2 结果与分析

### 2.1 提取溶剂的选择

在提取溶剂的选择时参考了标准GB/T 20769-2008,综合分析了阿维菌素杀虫剂的理化性质,

并比较了农药残留检测中样品前处理通常用的甲醇、乙腈及乙酸乙酯等溶剂的提取效果。实验发现, 甲醇、乙腈和乙酸乙酯对阿维菌素都有一定的提取效率。但由于甲醇提取物基质复杂, 样品中水分和干扰物不容易净化干净, 而乙腈比乙酸乙酯极性较大, 分子较小, 提取能力更强, 且乙腈能使 *PSA* 达到最佳的净化效果, 因此, 本实验选用乙腈作为提取溶剂。

## 2.2 基质分散净化剂的选择

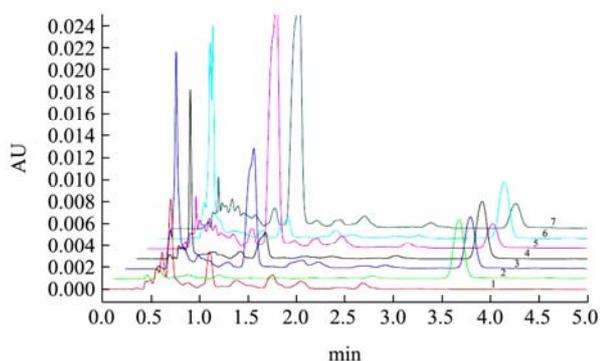


图1 纯标标准溶液 (1.0 µg/mL) 经不同吸附净化剂处理后的超高效液相色谱图

Fig.1 UPLC chromatogram of abamectin standard solution (1.0 µg/mL) treated by different adsorbents

注: 1 表示乙腈; 2 表示乙二胺-N-丙基硅烷; 3 表示十八烷基键合相硅胶; 4 表示石墨化炭黑; 5 表示乙二胺-N-丙基硅烷+十八烷基键合相硅胶; 6 表示乙二胺-N-丙基硅烷+石墨化炭黑。

进行 QuEChERS 前处理方法常用的净化剂有十八烷基键合相硅胶 (*C<sub>18</sub>*)、乙二胺-N-丙基硅烷 (*PSA*)、石墨化炭黑 (*Carb*) 等, 这几种净化剂在去除杂质的同时也可能对目标化合物产生吸附。

本实验分别将 2.0 mL 1.0 mg/L 阿维菌素标准溶液和阴性甘蓝、橙子混合基质标准溶液, 经装有不同种类净化剂的 5 中 QuEChERS 分散固相萃取管进行涡旋净化处理, 按 1.4 节条件超高效液相色谱检测, 回收率结果见表 1。纯标标准溶液经不同吸附净化剂处理后的色谱图如图 1 所示 (阿维菌素出峰时间为  $t=3.56$  min), 其中, 1 为乙腈, 2~7 为经不同吸附净化剂处理后的色谱图。

从表 1 可见, 使用纯溶剂标准溶液进行吸附实验时, 阿维菌素经 *Carb*、*PSA+Carb* 处理后, 回收率仅为 41.1%~51.0%, 阿维菌素经 *PSA* 处理后, 回收率为 85.1%, 而 *C<sub>18</sub>* 对阿维菌素基本上无吸附作用, 可见, *PSA* 和 *Carb* 对阿维菌素产生了不同程度的吸附作用, 尤其是 *Carb* 对阿维菌素产生了很强的吸附作用; 但使用甘蓝、橙子混合基质标准溶液进行同样的吸附实验时, *PSA* 和 *C<sub>18</sub>* 对阿维菌素均未产生吸附作用, 这可能是因为 *PSA* 吸附剂上存在很多活性位点, 吸附了待测物, 使用基质标准进行实验时, 吸附剂上的活性位点被基质占据, 对待测物吸附作用减小。固本研究选择 *PSA* 和 *C<sub>18</sub>* 作为基质分散固相萃取剂。通过优化, 选择在每毫升提取液中加入 25 mg *PSA* 和 50 mg *C<sub>18</sub>* 进行基质固相分散净化。

表 1 阿维菌素标准溶液经不同吸附净化剂处理后的回收率

Table 1 Recoveries of abamectin standard solution treated by different adsorbents

农药	溶剂标准溶液被吸附剂处理后的回收率/%					基质标准溶液被吸附剂处理后的回收率/%				
	<i>PSA</i>	<i>C<sub>18</sub></i>	<i>Carb</i>	<i>PSA+C<sub>18</sub></i>	<i>PSA+ Carb</i>	<i>PSA</i>	<i>C<sub>18</sub></i>	<i>Carb</i>	<i>PSA+ C<sub>18</sub></i>	<i>PSA+ Carb</i>
阿维菌素	85.1	97.1	41.1	95.5	51.0	104.5	110.4	42.3	107.2	50.6

表 2 甘蓝和橙子混合基质样品中阿维菌素杀虫剂的基质效应

Table 2 Matrix effects of abamectin insecticides on mixed matrix samples of cabbage and orange

农药	标准曲线			
	Acetonitrile	<i>PSA</i>	<i>C<sub>18</sub></i>	<i>PSA+ C<sub>18</sub></i>
阿维菌素	$Y=33802.31 X+799.70$	$Y=40583.68 X-1942.30$	$Y=37458.73 X-1073.79$	$Y=34446.89 X+497.07$
农药	基质效应			
	<i>PSA</i>	<i>C<sub>18</sub></i>	<i>PSA+ C<sub>18</sub></i>	
阿维菌素	1.201	1.108	1.019	

## 2.3 样品基质效应的考察

按 1.3 节方法, 获得不含待测杀虫剂的甘蓝和橙子混合空白基质提取液, 将提取液经上述基质分散固相萃取净化管 (即 *PSA*、*C<sub>18</sub>* 和 *PSA+C<sub>18</sub>* 基质分散提取净化剂) 净化处理, 分别用乙腈和 3 种净化处理后

的净化液配制系列标准溶液, 按 1.4 节条件进样后得到相应的基质标准曲线。基质效应=基质匹配校准曲线斜率/纯溶剂标准曲线斜率, 斜率比越接近 1, 则基质效应越小, 具体结果见表 2。从表 2 可知, 使用 *PSA*、*C<sub>18</sub>* 作为分散固相萃取剂时, 阿维菌素杀虫剂的基质效应较大, 而使用 *PSA+C<sub>18</sub>* 作为分散固相萃取剂时, 阿

维菌素农药的基质效应最小。这可能是由于 PSA 能有效去除基质中的糖类和脂肪类等极性杂质,而 C<sub>18</sub> 能除去脂溶性色素、脂肪和甾醇类等大部分非极性杂质。因此,本文用 PSA+C<sub>18</sub> 处理后的空白提取净化液配制标准系列,外标法定量。

## 2.4 方法的线性范围和检出限

在优化的条件下,测定 1.2 节配制的系列基质标

表 3 阿维菌素杀虫剂的基质线性方程、相关系数

Table 3 Matrix linear equations and correlation coefficients of abamectin insecticides

农药	线性范围/(mg/L)		标准曲线		相关系数(r)	
	cabbage	orange	cabbage	orange	cabbage	orange
阿维菌素	0.25~10	0.25~10	$Y=40325.99 X -2676.90$	$Y=40652.70 X +370.46$	0.99994	0.99998

## 2.5 方法回收率和精密度

对市售的甘蓝和橙子样品按照 1.3 节进行处理再检测,以未检出阿维菌素残留的上述样品进行添加回

收工作溶液,以峰面积为纵坐标(Y),浓度为横坐标(X),绘制标准曲线,阿维菌素在甘蓝、橙子单基质溶液的线性方程及相关系数见表 3。相关系数均大于 0.9999,阿维菌素在 0.25~10 mg/L 范围内具有良好的线性关系。以信噪比 S/N=3 确定检出限(LOD),阿维菌素在甘蓝和橙子基质中的检出限分别为 0.0109 mg/kg 和 0.0160 mg/kg。

收实验。在 20 g 匀浆样品中分别添加 0.05、0.1、0.5 mg/kg 浓度水平的标准溶液,进行含量测定,结果见表 4。阿维菌素在甘蓝和橙子中添加回收率为 83.0%~100.2%,相对标准偏差(RSD)为 1.17%~1.30%。

表 4 实际样品中阿维菌素杀虫剂残留量回收率和精密度实验结果 (n=6)

Table 4 Recoveries and precision of abamectin insecticides residues in real sample (n=6)

样品	添加浓度/(mg/kg)	测定值/(mg/kg)	回收率/%	RSD/%
甘蓝	0.05	0.0420	84.0	1.22
	0.1	0.0945	94.5	1.30
	0.5	0.467	93.4	1.27
橙子	0.05	0.0415	83.0	1.17
	0.1	0.0862	86.2	1.18
	0.5	0.501	100.2	1.21

## 2.6 实际样品测定

从本地市场随机抽取 10 份样品(甘蓝和橙子各 5 份)进行实际样品检测,按照本文建立的检测方法对样品进行检测,其中 3 份以添加标准样品的方式(0.100 mg/kg 加标水平)用于过程控制。结果表明,所测样品中均未检出阿维菌素残留,而且质量控制样品的检测结果稳定可靠,RSD 为 1.27%~1.36%。

## 3 结论

本文建立了分散固相萃取净化/超高效液相色谱法测定甘蓝和橙子中阿维菌素农药残留的分析方法。本方法采用改良的 QuEChERS 方法进行样品前处理,操作简单快捷,样品净化液经 UPLC-UV 分析后,采用空白基质匹配标准溶液外标法定量,结果准确可靠,用于甘蓝和橙子中阿维菌素杀虫剂残留的检测分析,结果令人满意。

## 参考文献

- [1] CHUNG K, YANG C C, WU M L, et al. Agricultural avermectins: an uncommon but potentially fatal cause of pesticide poisoning [J]. *Annals of Emergency Medicine*, 1999, 34(1): 51-57
- [2] WEI Zhang, TING Huang, HONG Mei-li, et al. Determination of avermectins by the internal standard recovery correction-high performance liquid chromatography-quantitative Nuclear Magnetic Resonance method [J]. *Talanta*, 2017, 172(1): 78-85
- [3] 廖晔,龚道新,唐晶,等.高效液相色谱-荧光法同时检测烟田中残留的阿维菌素和甲氨基阿维菌素苯甲酸盐[J].*农药*, 2014,53(4):266-268
- [4] LIAO Ye-jie, GONG Dao-xin, TANG Jing, et al. Determination of abamectin and emamectin benzoate in tobacco fields by HPLC-FD [J]. *Agrochemicals*, 2014, 53(4): 266-268
- [4] 何红梅,赵华,张春荣,等.超高效液相色谱-串联质谱法测定水稻基质中阿维菌素残留量[J].*分析化学研究报告*,2012, 40(1):140-144

- HE Hong-mei, ZHAO Hua, ZHANG Chun-rong, et al. Determination of abamectin residue in paddy rice by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Chinese Journal of Analytical Chemistry, 2012, 40(1): 140-144
- [5] 赵肖华,曹赵云,牟仁祥,等.液相色谱-串联质谱法测定蔬菜、水果中 5 种阿维菌素类药物残留量[J].分析测试学报, 2012,31(10):1266-1271
- ZHAO Xiao-hua, CAO Zhao-yun, MOU Ren-xiang, et al. Determination of 5 avermectin residues in fruits and vegetables by liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Journal of Instrumental Analysis, 2012, 31(10): 1266-1271
- [6] ZHANG Hui-xian, LU Wei, Hong XIA, et al. Rapid and sensitive detection of avermectin residues in edible oils by magnetic solid-phase extraction combined with ultra-high-pressure liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Food Analytical Methods, 2017, 10(7): 3201-3208
- [7] 林涛,邵金良,刘兴勇,等.QuEChERS-超高效液相色谱-串联质谱法测定蔬菜中 41 种农药残留[J].色谱,2015, 33(3): 235-241
- LIN Tao, SHAO Jin-liang, LIU Xing-yong, et al. Determination of 41 pesticide residues in vegetables by QuEChERS-ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Chinese Journal of Chromatography, 2015, 33(3): 235-241
- [8] 王连珠,黄小燕,陈泳,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
- WANG Lian-zhu, HUANG Xiao-yan, CHEN Yong, et al. Determination of 18 weakly acidic pesticide residues in fruits and vegetables by liquid chromatography-tandem mass spectrometry with QuEChERS sample preparation [J]. Journal of Instrumental Analysis, 2014, 33(10): 1102-1108
- [9] 李欣,孙素群,张卫锋,等.QuEChERS-液相色谱-串联质谱法测定蔬菜中 56 种农药残留[J].现代食品科技,2017, 33(10): 1-9
- LI Xin, SUN Su-qun, ZHANG Wei-feng, et al. Determination of the 56 pesticide residues in vegetables by QuEChERS-ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Modern Food Science and Technology, 2017, 33(10): 1-9
- [10] 许文娟,王振刚,丁葵英,等.QuEChERS/液相色谱-串联质谱法测定 5 种蔬菜中 17 种氨基甲酸酯类农药的基质效应研究[J].分析测试学报,2017,36(1):54-60
- XU Wen-juan, WANG Zhen-gang, DING Kui-ying, et al. Detection of matrix effects of 17 carbamate pesticides in 5 vegetables by QuEChERS /LC-MS /MS method [J]. Journal of Instrumental Analysis, 2017, 36(1): 54-60
- [11] 粟有志,冯峰,刘翠平,等.QuEChERS-液相色谱-串联质谱法测定植物源食品中氟噻草胺和乙酰甲草胺残留[J].分析试验室,2017,36(1):81-86
- SU You-zhi, FENG Feng, LIU Cui-ping, et al. Determination of flufenacet and diethatyl-ethyl in vegetative foods by QuEChERS-liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Chinese Journal of Analysis Laboratory, 2017, 36(1): 81-86