

# 液相色谱串联质谱法测定果蔬中的啉虫酰胺、氟啉虫酰胺、氯虫苯甲酰胺及氟虫双酰胺残留

朱建华, 赵莉\*

(上海市农业技术推广服务中心, 上海 201103)

**摘要:** 建立了同时测定蔬菜和水果中啉虫酰胺、氟啉虫酰胺、氯虫苯甲酰胺和氟虫双酰胺残留量的液相色谱-串联质谱(LC-MS/MS)分析方法。样品经乙腈提取, 过滤后进行盐析, 上层有机相经 QuEChERS 方法净化浓缩后, 用乙腈-水(体积比 20:80)定容进行分析。采用 XBridge™ C<sub>18</sub> 色谱柱, 以 0.1% 甲酸溶液-乙腈体系进行梯度洗脱, MRM 方式测定, 基质外标法定量。在优化条件下, 啉虫酰胺和氟啉虫酰胺的线性范围为 0.075~2.0 mg·L<sup>-1</sup>, 氯虫苯甲酰胺和氟虫双酰胺为 0.015~0.40 mg·L<sup>-1</sup>, 线性相关系数均不低于 0.998。啉虫酰胺、氟啉虫酰胺、氯虫苯甲酰胺及氟虫双酰胺在蔬菜和水果样品中的检出限(S/N=3)为 0.0008、0.005、0.002、0.0005 mg·kg<sup>-1</sup>。蔬菜和水果中 4 种农药在 0.05~5.0 mg·kg<sup>-1</sup>(氟啉虫酰胺和啉虫酰胺)和 0.01~1.0 mg·kg<sup>-1</sup>(氯虫苯甲酰胺和氟虫双酰胺)加标范围内的回收率为 80%~95%, 批内 RSD 为 2.0%~6.1%, 批间 RSD 为 3.3%~7.6%。

**关键词:** 啉虫酰胺; 氟啉虫酰胺; 氯虫苯甲酰胺; 氟虫双酰胺; 液相色谱串联质谱法; 残留

中图分类号: O657.63; S482.3 文献标识码: A 文章编号: 1004-4957(2011)06-0646-05

doi: 10.3969/j.issn.1004-4957.2011.06.010

## Simultaneous Determination of Tolfenpyrad, Flonicamid, Chlorantraniliprole and Flubendiamide in Vegetables and Fruits by High Performance Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry

ZHU Jian-hua, ZHAO Li\*

(Shanghai Agriculture Technical Extension Service Center, Shanghai 201103, China)

**Abstract:** A high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometric method was developed for the determination of tolfenpyrad, flonicamid, chlorantraniliprole and flubendiamide in vegetables and fruits. The samples were extracted with acetonitrile and purified by QuEChERS method after salting-out. The solution after purification was evaporated to dryness in a water bath at 40 °C under nitrogen and redissolved with 1 mL acetonitrile-water (20:80, by volume). The compounds were analyzed by LC-MS/MS on an XBridge™ C<sub>18</sub> column using acetonitrile-0.1% formic acid as mobile phase by gradient elution. The mass spectrometer was operated under multiple reaction monitoring(MRM) mode with the positive ionization mode. Good linearities were obtained in the concentrations of 0.075-2.0 mg·L<sup>-1</sup> for tolfenpyrad and flonicamid and 0.015-0.40 mg·L<sup>-1</sup> for chlorantraniliprole and flubendiamide, with correlation coefficients not less than 0.998. The detection limits of flonicamid, chlorantraniliprole, flubendiamide and tolfenpyrad were 0.005, 0.002, 0.0005, 0.0008 mg·kg<sup>-1</sup>, respectively. The recoveries for the four pesticides in vegetables and fruits were between 80% and 95% at fortified levels of 0.05-5.0 mg·kg<sup>-1</sup> for tolfenpyrad and flonicamid, and 0.01-1.0 mg·kg<sup>-1</sup> for chlorantraniliprole and flubendiamide. The intra-assay and inter-assay RSDs of four compounds were in the ranges of 2.0%-6.1% and 3.3%-7.6%, respectively. The results indicated that the method was suitable for the determination of tolfenpyrad, flonicamid, chlorantraniliprole and flubendiamide in vegetables and fruits sample.

**Key words:** tolfenpyrad; flonicamid; chlorantraniliprole; flubendiamide; liquid chromatography-

收稿日期: 2011-02-11; 修回日期: 2011-02-28

基金项目: 上海市 2010 年农业行业标准制定资助项目

\* 通讯作者: 赵莉, 硕士, 高级农艺师, 研究方向: 农产品安全, Tel: 021-64052181, E-mail: zhaoli5741@yahoo.com.cn

tandem mass spectrometry; residue

啉虫酰胺( Tolfenpyrad)、氟啉虫酰胺( Flonicamid)、氯虫苯甲酰胺( Chlorantraniliprole) 和氟虫双酰胺( Flubendiamide) 是近年来批准使用的具有酰胺基团的新型杀虫剂<sup>[1-4]</sup>。由于这4种药物具有作用机理独特、杀虫活性强以及杀虫谱广的特点, 目前已作为甲胺磷、马拉硫磷等高毒有机磷类农药的替代品推广使用<sup>[5]</sup>。虽然这4种新型杀虫剂属于低毒高效的农药, 但已有国家为保护公众身体健康, 制定了其最高残留限量<sup>[6]</sup>。为完善我国的农药残留分析方法标准体系和保护我国公众的身体健康, 有必要建立这4种化合物残留的分析方法。

目前这4种新型杀虫剂中关于啉虫酰胺和氟啉虫酰胺残留分析方法的报道非常少, 仅秦旭等<sup>[7]</sup>报道了啉虫酰胺在土壤和甘蓝中的气相色谱分析方法, Hengel 等<sup>[8]</sup>报道了干啤酒花中氟啉虫酰胺残留的液相色谱串联质谱分析法( LC-MS/MS); 而氯虫苯甲酰胺和氟虫双酰胺的报道相对较多, 分析方法主要有高效液相色谱法( HPLC) 和液相色谱串联质谱法( LC-MS/MS)<sup>[9-14]</sup>, 其净化手段有液液萃取净化、固相萃取净化和 QuEChERS 净化。但对该4种农药残留进行同时分析的方法尚无相关报道。本研究采用 LC-MS/MS 法, 结合 QuEChERS 净化技术建立了同时测定蔬菜和水果中啉虫酰胺、氟啉虫酰胺、氯虫苯甲酰胺和氟虫双酰胺残留的分析方法。该方法具有快速、准确和灵敏的特点, 能满足其在蔬菜和水果中定量分析的需要。

## 1 实验部分

### 1.1 仪器与试剂

Waters 2695 Quattro Micro™ API 高效液相色谱串联质谱仪( 美国 Waters 公司), 配置电喷雾离子源; Sigma 离心机。啉虫酰胺、氟啉虫酰胺、氯虫苯甲酰胺和氟虫双酰胺购于 Dr. Ehrenstorfer GmbH; PSA 填料和碳黑购于安捷伦科技公司。乙腈、甲醇和甲酸为色谱纯, 氯化钠和硫酸镁为分析纯。

### 1.2 仪器条件

XBridge™ C<sub>18</sub> 色谱柱( 100 mm × 2.1 mm, 内径 3.5 μm); 流动相 A 为 0.1% 甲酸溶液, B 相为乙腈, 梯度洗脱条件: 20% B 保持 2.0 min, 在 4.0 min 内线性增至 80% B, 保持 9.0 min, 在 0.1 min 内降至 20% B, 保持 4.9 min; 流速: 0.2 mL · min<sup>-1</sup>; 进样量: 10 μL; 柱温: 30 °C。

质谱条件: ESI 源正离子模式电离; 多反应监测( MRM); 毛细管电压: 3.5 kV; 萃取锥孔电压: 20 V; RF 透镜电压: 0.5 V; 离子源温度: 120 °C; 脱溶剂气温度: 350 °C; 锥孔气流速: 50 L · h<sup>-1</sup>; 脱溶剂气流速: 600 L · h<sup>-1</sup>; 倍增器电压: 650 V; 二级碰撞气: 氩气; 其它实验参数见表 1。

表 1 4 种杀虫剂的定性、定量离子对、锥孔电压及碰撞能量

Table 1 Qualitative ion pairs, quantitative ion pairs, cone voltages and collision energies of four insecticides

Pesticide	Qualitative ion pair <i>m/z</i>	Cone voltage <i>U/V</i>	Collision energy <i>E/eV</i>
Tolfenpyrad( 啉虫酰胺)	384.1 > 197.1*, 384.1 > 170.9	35	25, 25
Flonicamid( 氟啉虫酰胺)	230.1 > 174.0, 230.1 > 203.1*	30	16, 16
Chlorantraniliprole( 氯虫苯甲酰胺)	484.1 > 285.9, 484.1 > 452.9*	22	18, 17
Flubendiamide( 氟虫双酰胺)	683.3 > 273.9, 683.3 > 408.0*	25	35, 15

\* quantitative ion

### 1.3 样品处理

称取 10 g 试样( 精确至 0.01 g), 加入 20 mL 乙腈, 在匀浆机中匀质 2 min 后用滤纸过滤, 滤液收集到装有 3 g 氯化钠的 50 mL 聚四氟乙烯离心管中, 盖上盖子, 剧烈振摇 1 min 后, 5 000 r · min<sup>-1</sup> 离心 3 min。取上清液 6 mL 于已装有 QuEChERS 填料( 所有蔬菜和水果均装有 PSA 100 mg 和 MgSO<sub>4</sub> 300 mg, 菠菜和青菜等蔬菜还加有 20 mg 碳黑) 的 5 mL 带盖聚四氟乙烯离心管中, 剧烈振荡 30 s 后以 5 000 r · min<sup>-1</sup> 离心 3 min, 取 5 mL 上清液于 40 °C 水浴中氮气吹至近干, 加入乙腈-水( 体积比 20:80) 1 mL, 过 0.22 μm 滤膜后进行 LC-MS/MS 分析。

### 1.4 线性实验

准确称取适量啉虫酰胺、氟啉虫酰胺、氯虫苯甲酰胺和氟虫双酰胺标准品, 用乙腈溶解并定容至

100 mL, 配制成  $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  的标准储备液。取唑虫酰胺和氟啶虫酰胺标准储备液各 10 mL, 氟虫双酰胺和氯虫苯甲酰胺各 2 mL 于 100 mL 容量瓶中, 用乙腈定容至刻度, 得混合标准储备液。分别准确移取混合标准工作液适量, 用乙腈-水 (20 : 80) 配成唑虫酰胺和氟啶虫酰胺的质量浓度分别为 0.075、0.125、0.25、0.50、2.0  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  及氟虫双酰胺和氯虫苯甲酰胺的质量浓度分别为 0.015、0.025、0.05、0.10、0.40  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  的系列标准工作溶液。取 5 个空白菠菜试样, 按“1.3”步骤处理后, 加入系列标准工作溶液 1 mL, 上机测定。以定量离子对的峰面积 ( $y$ ) 为纵坐标, 标准溶液的质量浓度 ( $x$ ) 为横坐标, 绘制基质标准曲线。

## 2 结果与讨论

### 2.1 液相色谱-质谱分析

本文研究的 4 种杀虫剂均有酰胺基团, 在酸性条件下易被质子化, 同时由于电喷雾电离 (ESI) 离子源易于操作和维护, 本方法选择  $\text{ESI}^+$  进行分析。以乙腈-0.1% 甲酸溶液 (体积比 1 : 3) 为溶解液, 用蠕动泵 ( $20 \mu\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$ ) 对 4 种杀虫剂的质谱条件进行优化。优化后的质谱条件见“1.2”和表 1。

由于氟啶虫酰胺的极性较强, 其余 3 种杀虫剂的极性相对较弱, 以 0.1% 甲酸溶液-乙腈 (80 : 20, 体积比) 为流动相, 在等度洗脱条件下, 氟啶虫酰胺出峰太快导致基质效应较强, 其余 3 种杀虫剂则无法出峰或保留时间太长。以 0.1% 甲酸-甲醇为流动相时氟啶虫酰胺的灵敏度稍有改善, 但保留时间后延, 而其余 3 种杀虫剂的灵敏度均有所降低; 而改用 10 mmol/L 乙酸铵溶液-乙腈为流动相时, 氟啶虫酰胺的灵敏度下降约 5 倍, 其余 3 种药物无明显变化。最终确定以 0.1% 甲酸-乙腈为流动相, 梯度条件见“1.2”。在上述仪器条件下, 4 种杀虫剂标准溶液、空白样品和样品加标的色谱图见图 1。结果显示, 4 种杀虫剂的峰形较好, 空白样品中未见干扰。

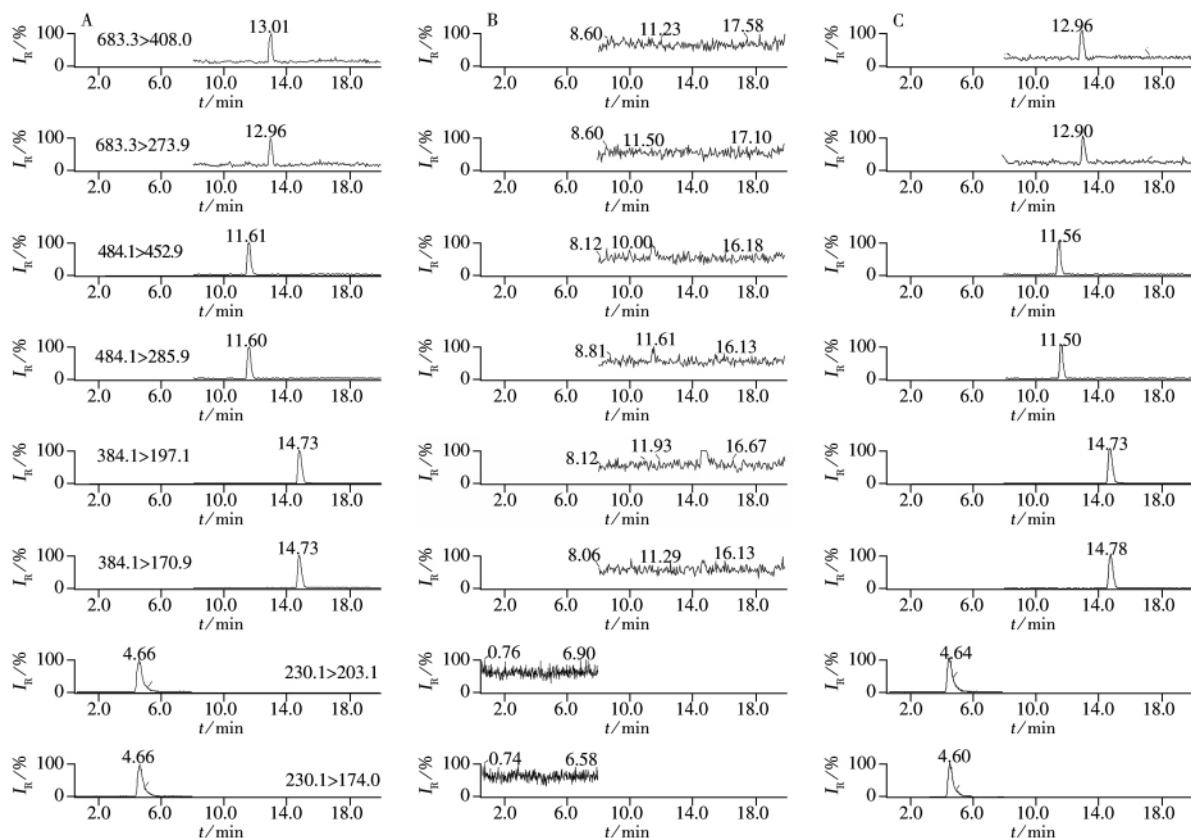


图 1 4 种杀虫剂标准溶液 (A)、菠菜空白样品 (B) 与菠菜样品加标 (C) 的 MRM 色谱图

Fig. 1 MRM chromatograms of four insecticides standard solution (A), spinach blank sample (B) and fortified spinach sample (C)

A: concentration of tolfenpyrad, flonicamid, chlorantraniliprole and flubendiamide were 125, 125, 25, 25  $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ , respectively; C: the fortified level of tolfenpyrad, flonicamid, chlorantraniliprole and flubendiamide were 0.05, 0.05, 0.01, 0.01  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ , respectively

## 2.2 提取净化方法的选择

目前,对这4种杀虫剂进行残留分析的净化手段主要有液液萃取净化、固相萃取净化和 QuEChERS 净化。由于 QuEChERS 净化方法简单、快速、经济,本文选用该净化方法并对 PSA 和碳黑的用量进行优化。当 PSA 用量为 50 mg 时,氟啉虫酰胺的基质效应约增强 20% 左右,其余 3 种杀虫剂的基质效应均在 10% 以内;而 PSA 用量为 100、150、200 mg 时,4 种杀虫剂的基质效应均在 10% 以内,因此以 100 mg 为 PSA 的最佳用量。

碳黑用量对有色蔬菜(菠菜和青菜)回收率的影响见图 2,其中啉虫酰胺和氟啉虫酰胺的添加水平为  $0.05 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,其余 2 种农药的添加水平为  $0.01 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。从图中可见,当碳黑用量在 20 ~ 150 mg 范围内,氟啉虫酰胺和氟虫双酰胺的回收率变化不大,而其余两种杀虫剂的加标回收率逐渐下降。因此确定碳黑的最佳用量为 20 mg。

## 2.3 方法的线性范围与相关系数

根据“1.4”进行线性实验,得到氟啉虫酰胺、氯虫苯甲酰胺、氟虫双酰胺及啉虫酰胺 4 种

杀虫剂的线性方程分别为  $y = 62\,295x - 82.441$ 、 $y = 96\,878x - 631.12$ 、 $y = 12\,329x + 3.864\,5$ 、 $y = 347\,046x - 7\,919.5$ ,相关系数( $r^2$ )分别为 0.998 0、0.999 3、0.999 1 和 0.999 3,结果表明本方法适用于这 4 种杀虫剂的定量分析。

## 2.4 方法的回收率与检出限

对 4 种杀虫剂在菠菜和桔子空白样品进行低、中、高 3 个水平的加标回收率实验,每个水平进行 5 次平行,实验结果见表 2。结果表明,4 种杀虫剂在蔬菜水果中的回收率为 80% ~ 95%,批内 RSD 为 2.0% ~ 6.1%,批间 RSD 为 3.3% ~ 7.6%,可见该方法具有较好的准确性和重复性。按信噪比  $S/N = 3$  计算该方法对啉虫酰胺、氯虫苯甲酰胺、氟啉虫酰胺和氟虫双酰胺的检出限分别为 0.000 8、0.002、0.005、0.000 5  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。

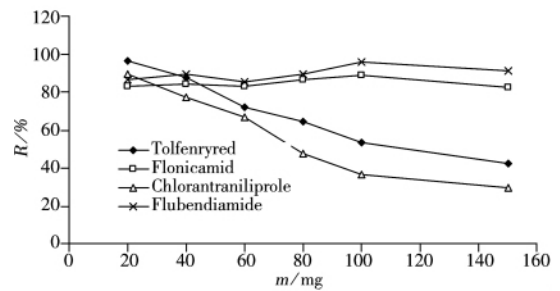


图2 碳黑用量对菠菜中4种杀虫剂加标回收率的影响

Fig. 2 Effects of carbon black usage on recoveries of four insecticides in spinach sample

表2 菠菜和桔子中4种杀虫剂的检出限、回收率和相对标准偏差

Table 2 Limits of detection, recoveries and RSDs of four insecticides in spinach and orange sample

Sample	Pesticide	Added $w/(\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1})$	Mean recovery $\bar{R}/\%$	Intra-assay RSD $s_r/\%$	Inter-assay RSD $s_b/\%$	Limit of detection $w/(\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1})$	
Spinach	Tolfenpyrad	0.05	80, 82, 82	4.0, 4.1, 3.3	4.5	0.000 8	
		0.50	84, 92, 86	3.0, 3.1, 3.3	4.0		
		5.0	90, 88, 91	3.1, 2.8, 2.7	3.6		
	Flonicamid	0.05	82, 80, 84	5.8, 5.6, 4.2	7.2		0.005
		0.50	86, 92, 88	4.8, 4.0, 5.5	4.9		
		5.0	94, 90, 92	3.8, 6.1, 5.6	6.0		
	Chlorantraniliprole	0.01	89, 87, 91	5.3, 4.2, 4.3	6.2		0.002
		0.10	85, 87, 83	3.6, 4.3, 3.1	5.9		
		1.0	90, 91, 88	3.3, 2.9, 2.1	4.2		
	Flubendiamide	0.01	88, 83, 80	6.1, 6.0, 4.6	7.6		0.000 5
		0.10	85, 84, 87	4.8, 5.5, 5.1	6.2		
		1.0	89, 92, 85	4.0, 4.9, 4.1	4.6		
Orange	Tolfenpyrad	0.05	92, 84, 86	4.0, 3.1, 3.7	4.7	0.000 8	
		0.50	88, 84, 90	3.7, 3.2, 2.5	4.0		
		5.0	86, 84, 88	2.2, 2.7, 3.1	3.7		
	Flonicamid	0.05	94, 92, 92	5.9, 4.5, 5.9	7.1		0.005
		0.50	90, 94, 86	4.0, 4.1, 4.9	5.9		
		5.0	90, 88, 90	3.8, 3.6, 4.1	5.1		
	Chlorantraniliprole	0.01	87, 89, 83	5.1, 4.7, 4.6	5.8		0.002
		0.10	85, 95, 89	4.1, 4.2, 3.2	4.3		
		1.0	87, 89, 89	3.0, 2.2, 2.9	3.7		
	Flubendiamide	0.01	86, 80, 87	5.9, 4.6, 3.8	6.0		0.000 5
		0.10	83, 89, 81	4.2, 3.7, 4.2	4.5		
		1.0	83, 87, 85	3.7, 2.5, 2.0	3.3		

## 2.5 实际样品的测定

利用该方法对7种市售蔬菜水果样品(菠菜、萝卜、空心菜、油麦菜、桔子、苹果和梨)进行测定,未检出该4种杀虫剂残留。

## 3 结论

本文建立了高效液相色谱串联质谱方法同时分析蔬菜水果中啉虫酰胺、氯虫苯甲酰胺、氟啉虫酰胺和氟虫双酰胺4种新型杀虫剂残留量的分析方法。样品经乙腈提取后进行QuEChERS净化,净化液经氮吹后进样分析。菠菜和桔子中4种杀虫剂的回收率为80%~95%,批内RSD为2.0%~6.1%,批间RSD为3.3%~7.6%,检出限为0.0005~0.005 mg·kg<sup>-1</sup>。方法简单快速、准确、灵敏,满足蔬菜和水果中4种杀虫剂残留同时定量分析的要求。

### 参考文献:

- [1] 张亦冰. 新颖杀虫剂——氟啉虫酰胺[J]. 世界农药, 2010, 32(1): 54-56.
- [2] 张一宾. 新颖杀虫杀螨剂——啉虫酰胺[J]. 世界农药, 2003, 23(6): 45.
- [3] 徐尚成, 俞幼芬, 王晓军, 万琴. 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.
- [4] 胡志彬, 柳爱平. 邻甲酰胺基苯甲酰胺类农药研究概述[J]. 农药研究与应用, 2009, 13(4): 1-5.
- [5] 农业部种植业管理司. 第四批高毒农药替代品种公布[J]. 今日农药, 2009, 9(2): 10-13.
- [6] 倪新, 张艺兵, 白兴月, 刘纪新, 门爱军. 日本氟啉虫酰胺拟订最大残留限量分析[J]. 检验检疫科学, 2007, 17(4): 69-70.
- [7] 秦旭, 孙扬, 秦冬梅, 徐应明. 啉虫酰胺在土壤和甘蓝中的气相色谱分析[J]. 农药, 2009, 48(9): 660-661.
- [8] HENGEL M J, MILLER M. Analysis of flonicamid and its metabolites in dried hops by liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. J Agric Food Chem, 2007, 55(20): 8033-8039.
- [9] 步海燕, 欧晓明, 马俊凯, 蔡德玲. 高效液相色谱法测定水体中的氯虫酰胺残留量[J]. 光谱实验室, 2008, 25(6): 1230-1234.
- [10] 秦冬梅, 秦旭, 孙扬, 徐应明. 氟虫双酰胺在土壤和白菜中的高效液相色谱分析[J]. 农药, 2009, 48(10): 755-756.
- [11] 钱鸣蓉, 章虎, 吴俐勤, 刘飞, 王祥云, 何红梅, 陈志民. 高效液相色谱-串联质谱法测定蔬菜中氯虫苯酰胺和氟虫双酰胺残留[J]. 分析化学, 2010, 38(5): 702-706.
- [12] 秦冬梅, 秦旭, 徐应明, 孙扬, 梁学峰, 戴晓华. 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.
- [13] BATTU R S, SINGH B, KOONER R, SINGH B. Simple and efficient method for the estimation of residues of flubendiamide and its metabolite desiodo flubendiamide[J]. J Agric Food Chem, 2008, 56(7): 2299-2302.
- [14] CABONI P, SARAIS G, ANGIIONI A, VARGIN S, PAGNOZZI D, CABRAS P, CASIDA J E. Liquid chromatography-tandem mass spectrometric ion-switching determination of chlorantraniliprole and flubendiamide in fruits and vegetables[J]. J Agric Food Chem, 2008, 56(17): 7696-7699.