

· 监测技术 ·

UPLC-MS/MS 法分析土壤中氨基甲酸酯类农药残留的基质效应研究

李苇苇¹, 薛发生², 明德¹, 罗杨¹, 向罗京¹

(1. 湖北省生态环境科学研究院, 湖北 武汉 430072;

2. 湖北省生态环境厅汉江生态环境监测中心, 湖北 仙桃 433000)

摘 要: 采用加速溶剂萃取处理土壤样品, 用超高效液相色谱-串联质谱法测定样品中 15 种氨基甲酸酯类农药残留, 方法在 5.00 $\mu\text{g/L}$ ~ 200 $\mu\text{g/L}$ 范围内线性良好, 检出限为 0.3 $\mu\text{g/kg}$ ~ 0.5 $\mu\text{g/kg}$, 加标回收率为 78.9% ~ 116%, 6 次测定结果的 RSD 为 0.7% ~ 15.7%。试验表明: 不同地域的 6 种标准土壤对 15 种目标物测定均存在不同程度的基质效应, 基质种类、基质质量浓度和农药质量浓度均会影响基质效应强度。

关键词: 氨基甲酸酯; 农药残留; 基质效应; 超高效液相色谱-串联质谱法; 土壤

中图分类号: O657.63

文献标志码: B

文章编号: 1006-2009(2022)02-0038-04

Research on Matrix Effect of Carbamate Pesticide Residues in Soil by Ultra Performance Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry

LI Wei-wei¹, XUE Fa-sheng², MING De¹, LUO Yang¹, XIANG Luo-jing¹

(1. Hubei Provincial Academy of Eco-environmental Sciences, Wuhan, Hubei 430072, China; 2. Department of Ecology Environment of Hubei Province-Hanjiang Eco-environmental Monitoring Center, Xiantao, Hubei 433000, China)

Abstract: 15 carbamate pesticide residues in soil samples were treated by accelerated solvent extraction and determined by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS). The linear range of the method was at 5.00 $\mu\text{g/L}$ ~ 200 $\mu\text{g/L}$ of the target compounds, the method detection limits were from 0.3 $\mu\text{g/kg}$ to 0.5 $\mu\text{g/kg}$, the recoveries ranged from 78.9% to 116%, the RSDs were 0.7% ~ 15.7% ($n=6$). The results showed that 6 standard soil samples from different regions had different matrix effects on the determination of 15 target substances, and the intensity of matrix effect was affected by matrix type, matrix concentration and pesticide concentration.

Key words: Carbamate; Pesticide residue; Matrix effect; Ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry; Soils

氨基甲酸酯类农药因杀虫效果显著, 生产和使用量逐年增加, 其对环境 and 人体健康造成的危害也越来越受关注^[1-3]。目前, 加速溶剂萃取前处理技术与液相色谱-串联质谱法 (LC-MS/MS) 相结合, 是土壤中氨基甲酸酯类农药应用最广泛的检测方法之一^[4-6]。虽然 LC-MS/MS 法灵敏度高、抗干扰能力强^[7-8], 但农药残留量低, 且土壤样品基质复杂, 存在严重的基质效应, 对测定结果的准确度造

成影响^[9-11]。通过评估方法前处理和检测过程的基质效应^[12], 有针对性地改进分析方法, 采取有效的基质效应补偿措施, 对准确测定土壤中氨基甲酸

收稿日期: 2021-02-03; 修订日期: 2022-01-05

基金项目: 国家科技重大专项“长江经济带化工园区场地污染防治技术集成与工程示范”项目课题三“在产化工园区场地污染防治工程示范”基金资助项目 (2019YFC1804000)

作者简介: 李苇苇 (1985—), 女, 湖北宜昌人, 工程师, 硕士, 从事环境监测工作。

酯类农药残留具有一定实际指导意义。

今选用我国不同地域的 6 种标准土壤样品为代表基质,建立加速溶剂萃取前处理结合 UPLC-MS/MS 法同时测定土壤中 15 种常见氨基甲酸酯类农药残留的方法。采用提取后加入法 (Post-extraction spiking method) 考察 6 种标准土壤中 15 种农药的基质效应,以期了解氨基甲酸酯类农药在不同种类土壤测定中的基质效应,进而为有效消除或者补偿农药残留测定中的基质效应提供理论支撑,为进行快速、准确的定量分析提供依据。

1 试验

1.1 主要仪器与试剂

Agilent 1290 Infinity II 型液相色谱,美国 AB TRIPLE QUAD 3500 型串联质谱仪,配电喷雾离子源 (ESI);ZORBAX Eclipse Plus C₁₈ 色谱柱 (2.1 mm × 50 mm,1.8 μm),石墨碳黑-*N* 丙基乙二胺复合填料萃取柱 (500 mg/6 mL),美国 Agilent 公司;AutoVap S8 型氮吹仪,美国 ATR 公司;Speed Extractor E-916 型加速溶剂萃取仪,瑞士 BUCHI 公司。

100 mg/L 的涕灭威、异丙威、甲萘威、克百威、残杀威、抗蚜威、二氧威、乙硫苯威、仲丁威、灭多威、杀线威、恶虫威、甲硫威、猛杀威、棉铃威等 15 种氨基甲酸酯类标准农药储备液,100 mg/L 的甲萘威-D7 和灭多威-D3 内标储备液,上海安普公司;黑龙江绥化黑土 (NSA-1)、河北邯郸潮土 (NSA-2)、陕西延安黄绵土 (NSA-3)、四川盆地紫色土 (NSA-4)、湖南长沙县水稻土 (NSA-5)、广州韶关红壤 (NSA-6) 6 种标准土壤样品,中国地质科

学院地球物理地球化学勘查研究所;甲醇、二氯甲烷 (色谱纯),美国 Fisher 公司;甲酸 (色谱纯),美国 Tedia 公司;硅藻土,使用前在马弗炉内 500 ℃ 烘 5 h。

1.2 样品采集与前处理

按照《土壤环境监测技术规范》(HJ/T 166—2004) 的相关要求采集土壤样品,密封后于 0 ℃ ~ 4 ℃ 避光保存,7 d 内完成萃取。准确称取 10.00 g 土壤样品和 3.00 g 硅藻土置于 100 mL 陶瓷研钵中,搅拌均匀后装入 40 mL 不锈钢萃取池 (萃取池底部加纤维滤膜)。将萃取池置于加速溶剂萃取仪上,用甲醇-二氯甲烷 (体积比为 1:2) 混合溶液提取,提取温度为 80 ℃,静态提取时间 5 min,循环次数 3 次,冲洗量 80%,氮气吹扫时间 60 s。提取液氮吹至 1 mL 左右,用石墨碳黑-*N* 丙基乙二胺复合填料萃取柱净化。洗脱液氮吹至近干,以甲醇-甲酸 (体积比为 1:1) 混合溶液定容至 1 mL,用 0.22 μm 聚四氟乙烯滤膜过滤,待测。

1.3 仪器条件

UPLC:色谱柱柱温 30 ℃,进样体积为 1 μL。流动相 A 是体积分数为 0.1% 的甲酸水溶液,B 为甲醇。梯度洗脱程序为 0 min ~ 6.0 min,φ(B) 为 5% ~ 95%,保持 2 min;在 0.1 min 内 φ(B) 由 95% 线性下降至 5%,保持 2.0 min,以平衡色谱柱;流量为 0.3 mL/min,运行时间为 10 min。

MS/MS:电喷雾离子源 (ESI),正离子 (ESI+) 模式扫描,多反应监测 (MRM);喷雾电压 5 500 V;气帘气 35 mL/min;碰撞气 7 mL/min;温度 500 ℃;停留时间 20 ms。其他参数见表 1。

表 1 质谱分析参数和标准曲线

Table 1 MS analysis parameters and standard curves for 15 pesticides

化合物	定量(定性)离子对质荷比	碰撞能量 <i>E</i> /eV	去簇电压 <i>U</i> /V	回归方程	相关系数 <i>r</i>	检出限 <i>w</i> / (μg · kg ⁻¹)	测定下限 <i>w</i> / (μg · kg ⁻¹)
杀线威	237.0,72.0(237.0,90.0)	31,13	50	$y = 7.62 \times 10^3 x + 879$	0.999	0.5	2.0
灭多威	163.0,88.0(163.0,106.0)	15,16	56	$y = 7.48 \times 10^3 x + 661$	0.998	0.4	1.6
二氧威	224.0,123.0(224.0,167.0)	23,13	93	$y = 261x + 504$	0.998	0.3	1.2
涕灭威	116.1,89.0(116.1,70.0)	12,11	93	$y = 1.26 \times 10^3 x + 159$	0.997	0.4	1.6
恶虫威	224.0,109.0(224.0,167.1)	26,17	80	$y = 3.72 \times 10^3 x + 630$	0.999	0.3	1.2
克百威	222.1,165.1(222.1,123.1)	17,29	96	$y = 1.52 \times 10^4 x + 219$	0.999	0.4	1.6
残杀威	210.1,111.0(210.1,168.1)	11,29	68	$y = 9.20 \times 10^3 x + 994$	0.999	0.3	1.2
甲萘威	202.1,145.1(202.1,127.1)	19,41	67	$y = 1.73 \times 10^4 x + 3.74 \times 10^3$	0.999	0.4	1.6
乙硫苯威	226.0,107.0(226.0,164.0)	28,13	70	$y = 1.82 \times 10^4 x + 345$	0.999	0.4	1.6
抗蚜威	239.1,72.0(239.1,182.1)	38,22	90	$y = 5.18 \times 10^3 x + 53.6$	0.999	0.3	1.2
异丙威	194.1,95.0(194.1,137.1)	22,13	80	$y = 1.93 \times 10^4 x + 750$	0.999	0.3	1.2
仲丁威	208.1,95.0(208.1,152.1)	23,12	84	$y = 2.00 \times 10^4 x + 2.62 \times 10^3$	0.999	0.3	1.2

续表

化合物	定量(定性)离子对质荷比	碰撞能量 E/eV	去簇电压 U/V	回归方程	相关系数 r	检出限 $w/$ ($\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)	测定下限 $w/$ ($\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)
甲硫威	226.0, 169.0 (226.0, 121.0)	14, 26	76	$y = 1.71 \times 10^4 x - 1.34 \times 10^3$	0.999	0.4	1.6
猛杀威	208.0, 109.0 (208.0, 151.0)	24, 13	80	$y = 1.91 \times 10^4 x - 113$	0.999	0.3	1.2
棉铃威	400.1, 238.0 (400.1, 91.0)	16, 65	102	$y = 6.92 \times 10^3 x + 211$	0.997	0.4	1.6

2 结果与讨论

2.1 方法效能验证试验

配制 5.00 $\mu\text{g/L}$ 、10.0 $\mu\text{g/L}$ 、25.0 $\mu\text{g/L}$ 、50.0 $\mu\text{g/L}$ 、100 $\mu\text{g/L}$ 、200 $\mu\text{g/L}$ 的 15 种农药纯溶剂标准系列,在 1.3 条件下测定,以峰面积响应值(y)对质量浓度(x)作回归曲线,结果见表 1。

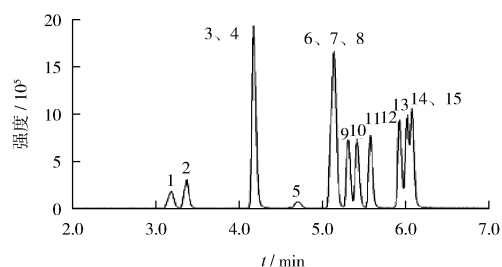
以检出限 3~5 倍的空白加标液测定方法检出限,计算 7 次测定结果的标准偏差 S ,按照公式 $\text{MDL} = t_{(n-1, 0.99)} \times S$ 计算方法检出限,结果见表 1。由表 1 可知,15 种氨基甲酸酯类农药的检出限为 0.3 $\mu\text{g/kg}$ ~ 0.5 $\mu\text{g/kg}$,测定下限为 1.2 $\mu\text{g/kg}$ ~ 2.0 $\mu\text{g/kg}$ 。采用基质匹配标准溶液-外标法定量,对 6 种标准土壤空白基质做 3 个质量比水平(1.0 $\mu\text{g/kg}$ 、2.5 $\mu\text{g/kg}$ 和 10 $\mu\text{g/kg}$)的加标回收试验,每个加标水平重复试验 6 次,15 种目标物的平均回收率为 78.9% ~ 116%,RSD 为 0.7% ~ 15.7%。NSA-5 加标量为 10 $\mu\text{g/kg}$ 的总离子流见图 1。

2.2 基质效应分析

采用提取后加入法定量测定提取空白基质与纯溶剂中相同浓度待测物的离子响应强度,通过二者的比值来评价基质效应(Matrix Factor,简称 MF), $\text{MF} = B/A$,其中, A 和 B 分别表示纯溶剂与基质溶液中待测物的峰面积。若 $\text{MF} < 1$,则表示基质对分析物的响应产生抑制作用;若 $\text{MF} > 1$,则表示基质会增强分析物的响应;若 $\text{MF} = 1$,则表示不存在基质效应^[13-14]。当基质质量浓度为 10 g/mL 时,6 种不同农药质量浓度(5.00 $\mu\text{g/L}$ 、10.0 $\mu\text{g/L}$ 、25.0 $\mu\text{g/L}$ 、50.0 $\mu\text{g/L}$ 、100 $\mu\text{g/L}$ 和 200 $\mu\text{g/L}$)条件下,NSA-1、NSA-2、NSA-3、NSA-4、NSA-5 和 NSA-6 中 15 种氨基甲酸酯类农药的基质效应分别为 0.86 ~ 1.81、0.87 ~ 1.87、1.27 ~ 6.89、0.28 ~ 2.15、0.53 ~ 1.15 和 0.86 ~ 2.08。

2.3 基质种类对基质效应的影响

当农药添加量为 100 $\mu\text{g/L}$ 时,分别考察 15 种目标物在 6 种不同基质中的基质效应,得出基质种类对基质效应的影响。试验表明,不同基质种类对同一种农药呈现不同的基质效应,对于抗蚜威



1—杀线威; 2—灭多威; 3—恶虫威; 4—抗蚜威; 5—涕灭威; 6—二氧威; 7—克百威; 8—残杀威; 9—甲萘威; 10—乙硫苯威; 11—异丙威; 12—仲丁威; 13—甲硫威; 14—猛杀威; 15—棉铃威。

图 1 NSA-5 加标样总离子流

Fig. 1 Total ion current of spiked sample NSA-5

(Pirimicarb) 和灭多威(Methomyl), NSA-1、NSA-2、NSA-4、NSA-5 和 NSA-6 对其基质效应均不明显, MF 值为 0.91 ~ 0.98,在实际分析中可适当忽略基质效应因素。NSA-4 会明显抑制克百威在 UPLC-MS/MS 上的响应, MF 值为 0.59。虽然 NSA-1 和 NSA-2 对克百威的基质效应不显著,但 NSA-3 和 NSA-6 对克百威具有基质增强作用, MF 值为 1.62 和 1.17。

NSA-3 对 15 种目标物均具有明显的基质增强效应, MF 为 1.4 ~ 1.63; NSA-5 对 15 种目标物均有明显抑制作用, MF 为 0.7 ~ 0.9; NSA-4 对 15 种目标物为抑制效应,除了克百威 MF 为 0.59 以外,其余 14 种 MF 范围在 0.9 ~ 0.99 之间,为弱抑制效应;而 NSA-1 和 NSA-2 对 15 种农药的 MF 为 0.88 ~ 1.01,主要为弱抑制效应; NSA-6 中 15 种目标物的信号强度影响各异, MF 在 0.91 ~ 1.17 之间,对克百威、棉铃威具有微弱的基质增强效应,其余目标物均表现为基质抑制效应。由此可见,大部分土壤对 15 种目标物的基质效应影响一致,只有少部分既存在抑制效应又存在增强效应。

2.4 农药质量浓度对基质效应的影响

分别以 NSA-3 和 NSA-5 为例,比较同一种土壤基质中不同农药质量浓度(5.00 $\mu\text{g/L}$ 、10.0 $\mu\text{g/L}$ 、25.0 $\mu\text{g/L}$ 、50.0 $\mu\text{g/L}$ 、100 $\mu\text{g/L}$ 和 200 $\mu\text{g/L}$)对基质效应的影响。结果表明:当农药质量浓度不同时,同种土壤基质对同一农药的基质效应不同,基

质对各农药的基质效应随农药质量浓度的递增而减小。即对于基质抑制效应,农药质量浓度越高,基质对其抑制作用越不明显;而对于基质增强效应,农药质量浓度越高,基质对其响应值的增强作用越不显著,如 NSA-3 陕西延安黄绵土。

2.5 基质质量浓度对基质效应的影响

当农药质量浓度相同时,分别考察不同基质质量浓度对同一基质中各目标物的基质效应。按照 1.2 前处理方法,分别以 5 g 样品定容至 1 mL、10 g 样品定容至 1 mL、15 g 样品定容至 1 mL 得到基质质量浓度为 5 g/mL、10 g/mL、15 g/mL 的基质提取液,再分别加入一定体积的混合标准溶液准确定容,得到 100 $\mu\text{g/L}$ 的基质提取液加标样品,在 1.3 条件下测定。结果表明,以 NSA-3 和 NSA-5 为例,基质质量浓度对 15 种目标物的基质效应呈相同规律,即基质质量浓度越大,基质效应对各种农药的影响作用越强。对于具有基质抑制效应的农药,基质质量浓度越大,其 MF 值越小,说明在 LC-MS/MS 分析过程中,基质对目标物离子化和离子蒸发作用的抑制作用越明显;对于具有基质增强效应的农药,基质质量浓度越高,其 MF 值越大,说明基质对 LC-MS/MS 响应值的增强作用越显著。

以 NSA-5 中甲硫威为例,基质质量浓度为 5 g/mL 时,对甲萘威的基质效应(MF 值)为 0.97,表明该质量浓度下 NSA-5 对甲硫威在 LC-MS/MS 上的响应无明显的基质效应;而当基质质量浓度增加到 15 g/mL 时,ME 值为 0.77,该质量浓度的 NSA-5 对甲硫威具有明显的基质抑制作用。

3 结语

系统评价了在加速溶剂萃取前处理结合 UPLC-MS/MS 检测方法下,不同地域 6 种标准土壤样品对 15 种氨基甲酸酯类农药的基质效应。基质种类、基质质量浓度和农药质量浓度均会影响基质效应强度,同一种土壤对 15 种氨基甲酸酯类农药的基质效应影响基本一致;基质质量浓度越大,基质效应对各种农药的影响作用越强;农药质量浓度越高,基质对其响应值的增强作用越不显著。在实际检测中,虽然采用基质匹配标准曲线法对于提高样品检测的准确度最为有效,但不适用于大批量样品。对于大批量的样品,可以采用同位素内标法消除基质干扰,以获得相对准确的检测结果。对于污染土壤的高浓度农药样品,可减少土壤称样量以降

低基质浓度,并结合前两种方法来提高样品检测的准确度。该研究结果为土壤中氨基甲酸酯类农药日常检测的定性、准确定量分析提供了依据。

[参考文献]

- [1] ZHANG J M, GUO J Q, WU C H, et al. Exposure to carbamate and neurodevelopment in children: Evidence from the SMBCS cohort in China[J]. *Environmental Research*, 2019, 177: 1–7.
- [2] FU D J, LI P, SONG J, et al. Mechanisms of synergistic neurotoxicity induced by two high risk pesticide residues-Chlorpyrifos and Carbofuran via oxidative stress[J]. *Toxicology in Vitro*, 2019, 54: 338–344.
- [3] 谢慧, 朱鲁生, 王军, 等. 涕灭威及其有毒代谢产物对土壤微生物呼吸作用的影响[J]. *农业环境科学学报*, 2005, 24(1): 191–195.
- [4] 郭礼强, 丁葵英, 张金玲, 等. 液相色谱-串联质谱法测定土壤中 19 种氨基甲酸酯类农药[J]. *分析实验室*, 2016, 35(2): 214–219.
- [5] MORENO-GONZÁLEZ D, HUERTAS-PÉREZ J F, GARCÍA-CAMPAÑA A M, et al. Determination of carbamates in edible vegetable oils by ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry using a new clean-up based on zirconia for QuEChERS methodology[J]. *Talanta*, 2014, 128: 299–304.
- [6] 生态环境部. 土壤和沉积物 氨基甲酸酯类农药的测定 液相色谱-串联质谱法: HJ 961—2018[S]. 北京: 中国环境出版社, 2019.
- [7] 陈界江, 邹云, 高仪斌, 等. UPLC-MS/MS 法同时测定地表水中多种有机污染物[J]. *环境监测管理与技术*, 2020, 32(2): 52–55.
- [8] 杨敏娜, 高翔云, 汤志云. UPLC-串联质谱法快速测定地表水中多种农药残留[J]. *环境监测管理与技术*, 2019, 31(1): 54–57.
- [9] 向平, 沈敏, 卓先义. 液相色谱-质谱分析中的基质效应[J]. *分析测试学报*, 2009, 28(6): 753–754.
- [10] 徐炎炎, 李森, 张芹, 等. 气质联用和液质联用中基质效应的分析和总结[J]. *农药*, 2017, 56(3): 162–167.
- [11] 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.
- [12] MATUSZEWSKI B K, CONSTANZER M L, CHAVEZ-ENG C M. Strategies for the assessment of matrix effect in quantitative bioanalytical methods based on HPLC-MS/MS[J]. *Analytical Chemistry*, 2003, 75(13): 3019–3030.
- [13] HELEN S, THORSTEN R, LUTZ A. Compensation of matrix effects by post column infusion of a monitor substance in multiresidue analysis with LC-MS/MS[J]. *Analytical Chemistry*, 2009, 81(6): 2185–2192.
- [14] 王立琦, 贺利民, 曾振灵, 等. 液相色谱-串联质谱检测兽药残留中的基质效应研究进展[J]. *质谱学报*, 2011, 32(6): 321–332.