

刘海林,耿安静,陆晓宇,等. LC-MS/MS 测定蔬菜中残留的磺酰脲类除草剂[J]. 江苏农业科学,2015,43(7):325-327.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2015.07.111

LC-MS/MS 测定蔬菜中残留的磺酰脲类除草剂

刘海林¹,耿安静²,陆晓宇³,朱将伟⁴

(1. 广东省农业科学院环境园艺研究所/广东省园林花卉种质创新与利用重点实验室,广东广州 510640; 2. 广东省农业科学院农产品公共监测中心,广东广州 510640; 3. 广东省农业科学院农业生物基因研究中心,广东广州 510640; 4. 北京大学生命科学学院,北京 100871)

摘要:利用液相色谱-串联质谱法同时测定蔬菜(豇豆)中氯磺隆等 5 种磺酰脲类除草剂残留,首先用甲醇-磷酸盐缓冲液提取蔬菜中的磺酰脲类除草剂,经固相萃取柱净化后用 LC-MS/MS 进行分析,最终实现定性和定量测定。结果表明,此方法定量限可达 0.6 μg/kg 以下,回收率范围为 80.1%~91.2%,RSD 为 3.7%~6.7%,符合我国食品中农药残留检测相关标准的要求。

关键词:液相色谱-串联质谱法;蔬菜;磺酰脲类除草剂;残留

中图分类号: TQ450.2⁺63 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2015)07-0325-02

磺酰脲类除草剂是当前使用量最大的一类除草剂,主要用于防除阔叶杂草及某些禾本科杂草,在现代化农业生产中发挥了极其重要的作用,但其应用所导致的农药残留给生态环境和农产品安全造成诸多负面影响^[1-2]。国际食品贸易组织对该类除草剂实行了严格的限量标准,欧美等国家均制定了农作物中各种磺酰脲类除草剂的残留限量标准和官方检测方法^[3]。目前多采用色谱法、色谱-质谱联用法、酶联免疫吸附分析法等方法对磺酰脲类除草剂进行检测。由于磺酰脲类除草剂的热不稳定性和低挥发性,一般不适宜采用气相色谱分析,因此目前应用最为广泛的方法是 HPLC 法,但该方法在应用中容易出现假阳性,灵敏度也不够高^[3-4]。采用液相色谱-串联质谱法(LC-MS/MS)对磺酰脲类除草剂进行分析,可显著简化分析步骤,并且 LC-MS/MS 法具有灵敏度高、选择性强、检测结果一般不需再次确证等优点。在本试验中研究了豇豆中氯磺隆等 5 种磺酰脲类除草剂残留分析的样品前处理方法和液-质联用分离检测条件,结果表明,本方法操作简便、灵敏度高、净化效果好,可用于分析豇豆等蔬菜中的磺酰脲类除草剂残留量。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

安捷伦 1200/6410 高效液相色谱-三重四级杆串联质谱仪(美国);安捷伦 ZORBAX Eclipse Plus C₁₈ 色谱柱(3.0 mm × 100 mm,1.8-μm);Waters 固相萃取柱(Oasis® HLB; 200mg,6mL);粉碎机;匀浆机;振荡器;水浴、氮吹仪等。

乙腈(HPLC,德国 Merck 公司);甲醇(HPLC,德国 Merck 公司);甲酸(HPLC,美国 J. T. Baker 公司);磷酸(优级纯)。农药标样:氯磺隆、噻吩磺隆、苄嘧磺隆、吡嘧磺隆、氯嘧磺隆(纯度均>98%)。

收稿日期:2014-06-23

基金项目:广东省科技计划(编号:2012B060600004)。

作者简介:刘海林(1980—),男,山东滨州人,硕士,助理研究员,从事园艺方面相关研究。E-mail:1924597780@qq.com。

磷酸盐缓冲溶液(pH 值 7.8):称取 41.70 g 磷酸氢二钾(K₂HPO₄·3H₂O)和 2.30 g 磷酸二氢钾(KH₂PO₄)加水溶解至 1 000 mL。

磷酸盐缓冲溶液(pH 值 2.0~3.0):以上述磷酸盐缓冲溶液(pH 值 7.8)为母液,加磷酸调节 pH 值至 2.0~3.0。

提取液:将磷酸盐缓冲溶液(pH 值 7.8)与甲醇按体积分数 50%混合均匀。

1.2 色谱与质谱条件

色谱柱:ZORBAX Eclipse Plus C₁₈ 柱(安捷伦,3.0 mm × 100 mm,1.8-μm);流动相:A 相(0.1%甲酸+4 mmol 乙酸铵)、B 相(甲醇);柱温:30℃;进样量:5 μL。

梯度洗脱程序:0 min(80% A)→0.5 min(80% A)→4.0 min(10% A)→9.0 min(10% A)→9.1 min(80% A)→11.0 min(80% A)。后运行时间:1 min。流动相速度:0.3 mL/min。

质谱相关参数:电喷雾离子源,多反应监测扫描(MRM),正离子模式,离子源参数(干燥气流速 10 L/min,干燥气温度 320℃,雾化气压力 275.8 kPa,毛细管电压 4 000 V)。质谱采集参数见表 1。

表 1 5 种除草剂的质谱采集参数

除草剂名称	母离子(m/z)	子离子(m/z)	碎裂电压(V)	碰撞能量(eV)	碰撞池加速电压(V)
氯磺隆	358	141	110	15	3
		167	110	15	3
噻吩磺隆	388	141	120	10	3
		167	120	10	3
苄嘧磺隆	411	149	120	20	3
		182	120	15	3
吡嘧磺隆	415	182	100	15	3
		369	100	10	3
氯嘧磺隆	415	186	120	10	3
		213	120	10	3

1.3 样品处理

1.3.1 样品制备 取 1 000 g 待测蔬菜样品(豇豆),人工去

除叶、梗等杂物,进行粉碎后备用。

1.3.2 提取 称取 20.0 g 试样于 200 mL 具塞锥形瓶中,加入 80 mL 提取液,加盖后振荡 30 min (150 r/min),超声提取 10 min,布氏漏斗抽滤,转移滤液至 100 mL 容量瓶中,用提取液清洗、转移并定容至 100 mL,混匀。移取 20 mL 上述溶液在 40 ℃ 水浴中减压浓缩至 10 mL 左右,加 10mL 磷酸盐缓冲溶液 (pH 值 2.0~3.0),并用磷酸调节 pH 值至 2.0~3.0,待净化^[5]。

1.3.3 净化 依次用 5 mL 甲醇、5 mL 水、5 mL 提取液淋洗活化固相萃取柱 (Oasis HLB;200 mg,6 mL),将上述待净化液转移上柱,抽干;再用 6 mL 乙腈洗脱,收集至刻度管中,40 ℃ 氮吹至近干,移取 2.00 mL 体积分数为 50% 的甲醇水溶液超声溶解样品,过 0.2 μm 滤膜,装入进样瓶中待测。

1.4 标准曲线与样品测定

将除草剂标准物质配制成系列浓度的混合标准溶液,进行 LC-MS/MS 分析,以质谱响应值 (定量离子的丰度) 对应浓度分别制作各除草剂的标准曲线;经处理的样品提取物在上述色谱-质谱条件下进行分析,参照标准曲线用外标法计算样品中各除草剂的浓度。

2 结果与分析

2.1 萃取方法的优化

在磺酰胺类除草剂残留分析中常用的提取溶剂有乙腈、甲醇、磷酸盐缓冲溶液、磷酸盐缓冲液-乙腈和磷酸盐缓冲液-甲醇等。由于磺酰胺类除草剂为弱酸性,对 pH 值较敏感,大多数磺酰胺类除草剂的酸度系数 *pKa* 值在 3.0~5.8 的范围内,而提取液的 pH 值一般以大于 *pKa* 值 2 个单位为宜 (这有利于磺酰胺类除草剂从蔬菜中提取出来)。本试验比较了磷酸盐缓冲溶液、磷酸盐缓冲液-乙腈和磷酸盐缓冲液-甲醇作为提取溶剂的效果,结果表明,以磷酸盐缓冲液-乙腈或者磷酸盐缓冲液-甲醇为提取液时,其回收率 (87% 左右) 较好,且稳定,而以磷酸盐缓冲溶液作为提取液时回收率极不稳定;另外,在试验中还发现以磷酸盐缓冲液-乙腈作为提取液时,溶出的杂质加多,影响后续净化与分析,因此最终确定以磷酸盐缓冲液 (pH 值 7.8)-甲醇作为提取液。

2.2 仪器分析条件的优化

本试验比较了不同体系的流动相 (0.1% 甲醇-甲酸水溶液;0.1% 乙腈-甲酸水溶液;甲醇-0.1% 甲酸+4 mmol 乙酸铵;乙腈-0.1% 甲酸+4 mmol 乙酸铵)。结果表明,不同的流动相对除草剂的离子化水平产生较大的影响,当采用上述前 2 种流动相体系时,5 种待测除草剂的质谱响应值均显著低于采用后 2 种流动相时的响应值 (约低 1 个数量级),且峰形差;另外,采用乙腈-0.1% 甲酸+4 mmol 乙酸铵体系时,虽然响应值较高,但峰形差,色谱分离效果也不理想。因此,最终选择甲醇-0.1% 甲酸+4 mmol 乙酸铵作为流动相,同时也对乙酸铵的浓度进行了优化,乙酸铵能有效改善峰形和调节离子化水平,但浓度高于 4 mmol 时并不能更好地发挥改善峰形的作用,过高的盐分还会对基线的稳定性产生负面作用,因此最终选取乙酸铵的浓度为 4 mmol。

为了取得最佳的分析效果,在优化了萃取及净化方式、流动相以及梯度洗脱程序等条件后,对各项质谱参数也进行了优化 (表 1)。图 1 为 5 种磺酰胺类除草剂混合标准品的总离子流。

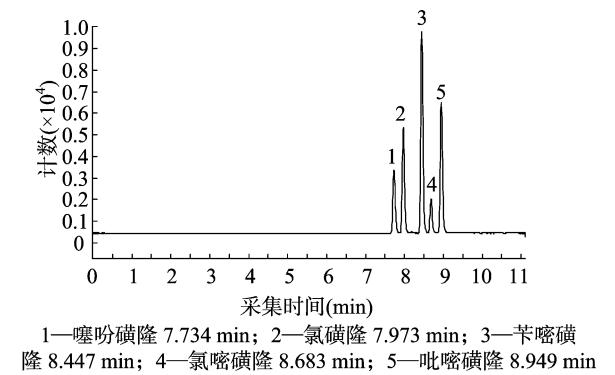


图1 5种磺酰胺类除草剂混合标准品总离子流

2.3 线性关系与检出限

在上述经优化的测试条件下,取一系列浓度的除草剂标准品混合液进行分析,以各除草剂组分的质谱响应值对其浓度作出曲线,得到各除草剂的线性回归方程,各除草剂在 1~100 μg/L 范围内线性关系较好。当样品中有磺酰胺类除草剂被检出,且残留浓度超过该线性范围时,需经稀释处理后再次测定。5 种磺酰胺类除草剂的线性回归方程、相关系数、检出限、定量限等见表 2,以 3 倍信噪比确定检出限,以 4 倍检出限作为定量限。

表 2 LC-MS/MS 法测定 5 种除草剂的回归方程、相关系数及检出限和定量限

名称	回归方程	相关系数	检出限 (μg/L)	定量限 (μg/L)
氯磺隆	$y = 290.7x + 120.6$	0.999 9	0.09	0.36
噻吩磺隆	$y = 205.6x + 142.5$	0.999 8	0.11	0.44
苄嘧磺隆	$y = 576.1x + 204.7$	0.999 7	0.08	0.32
吡嘧磺隆	$y = 361.1x + 181.2$	0.999 7	0.08	0.32
氯嘧磺隆	$y = 136.8x + 103.7$	0.999 8	0.14	0.56

2.4 添加回收试验结果以及与其他标准方法测定结果的比较

向 2 组空白豇豆样品中加入除草剂混合标准溶液,使第 1 组样品中各除草剂浓度为 5.0 μg/kg,第 2 组中各除草剂浓度为 20.0 μg/kg。按照上述分析测试流程及选定的参数测定 5 种除草剂的含量并计算回收率 (*n* = 5),其回收率范围为 80.1%~91.2%,*RSD* 为 3.7%~6.7%,均符合方法学上的要求。这 2 组豇豆样品同时还按照 GB/T 23817—2009《大豆中磺酰胺类除草剂残留量的测定》进行了测定 (*n* = 5),测定结果见表 3。经比较发现,2 种方法的测定结果基本相当

表 3 5 种除草剂的回收率和精密度试验结果

除草剂名称	加标量 (μg/kg)	测定值 (μg/kg)	回收率 (%)	<i>RSD</i> (%)	GB/T 23817—2009 测定值 (μg/kg)
氯磺隆	5.0	4.23 ± 0.11	84.6	4.2	4.32 ± 0.19
	20.0	16.02 ± 0.24	80.1	3.7	16.19 ± 0.14
噻吩磺隆	5.0	4.48 ± 0.19	89.6	4.7	4.42 ± 0.24
	20.0	17.11 ± 0.22	85.6	4.3	17.30 ± 0.22
苄嘧磺隆	5.0	4.17 ± 0.29	83.4	5.9	4.27 ± 0.21
	20.0	16.22 ± 0.21	81.1	6.7	18.69 ± 0.19
吡嘧磺隆	5.0	4.41 ± 0.27	88.2	5.6	4.49 ± 0.13
	20.0	18.23 ± 0.19	91.2	4.3	18.99 ± 0.12
氯嘧磺隆	5.0	4.22 ± 0.26	84.4	5.4	4.30 ± 0.17
	20.0	16.80 ± 0.14	84.0	3.9	17.11 ± 0.26

闫文利, 胡喜贵, 姜小苓, 等. 不同萃取头对百农矮抗 58 面粉香气成分分析的比较[J]. 江苏农业科学, 2015, 43(7): 327–330.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2015.07.112

不同萃取头对百农矮抗 58 面粉香气成分分析的比较

闫文利, 胡喜贵, 姜小苓, 胡铁柱, 茹振钢

(河南科技学院小麦中心, 河南新乡 453003)

摘要:采用 50/30 μm DVB/CAR/PDMS、65 μm PDMS/DVB、75 μm CAR/PDMS 和 100 μm PDMS 4 种不同涂层纤维的萃取头萃取百农矮抗 58(AK58)面粉香气成分, 顶空固相微萃取(HS-SPME)与气质联用(GC-MS)相结合, 对 AK58 面粉中的香气成分进行初步分析鉴定。结果表明, 4 种萃取头共检测出 48 种挥发性化合物, 采用 50/30 μm DVB/CAR/PDMS 和 65 μm PDMS/DVB 萃取头结合 HS-SPME, 可以较全面地提取 AK58 面粉的挥发性成分。

关键词:萃取头; AK58 面粉; 香气成分; 顶空固相微萃取; 气质联用

中图分类号: S512.101 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2015)07-0327-04

小麦营养丰富、经济价值高, 是我国主要粮食作物之一^[1]。小麦面粉广泛应用于面条、馒头、面包等产品的加工, 都是人们喜爱的食物。小麦面粉有自然浓郁的麦香味, 凡符合国家标准的面粉都有小麦天然香味^[2]。

食品香气是一些挥发性物质, 是具有确定结构的化合物, 是食品风味的一个重要方面^[3]。食品中香气成分分离、分析和评价的一般步骤是: 首先尽量完全地从食品中抽提出香味组分, 然后借助现代仪器进行定性、定量分析, 最后是评价重要的挥发性组分对香气的贡献^[4]。顶空固相微萃取(HS-SPME)是一种样品前处理新技术, 集采样、萃取、浓缩、进样于一体, 是提取食品风味物质的精确技术, 能够与气相、气相-质谱(GC-MS)、液相、液相-质谱仪联用, 有手动和自动 2 种操作方式, 常与 GC-MS 联用来分析和鉴定风味物

质^[5]。目前, 稻米、甜玉米、大蒜等作物的香气成分已有报道^[6-9], 而对小麦香气成分的研究较少。燕雯等用 50/30 μm 聚二乙烯基苯、羧乙基与聚二甲基硅氧烷(DVB/CAR/PDMS)复合萃取头对黄淮地区 3 种不同筋力小麦品种的挥发性成分进行了研究^[10]; 张玉荣等利用 50 μm DVB/CAR/PDMS 复合萃取头, 研究了小麦面粉储藏期间挥发性成分变化^[11]; 张玉玉等用 GC-MS 定量分析传统小麦酱中的挥发性成分^[12]。

本研究利用顶空固相微萃取与气质联用^[13]相结合的方法, 分析 AK58 面粉的香气成分, 通过比较 50/30 μm DVB/CAR/PDMS、65 μm 聚二甲基硅氧烷与聚二乙烯基苯(PDMS/DVB)、75 μm 羧乙基与聚二甲基硅氧烷(CAR/PDMS)3 种不同复合萃取头及 100 μm 聚二甲基硅氧烷(PDMS)萃取头^[14]在萃取化合物的种类、数量及萃取量上的异同, 旨在找到适合萃取小麦面粉的萃取头, 为进一步分析小麦面粉香气成分提供技术参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

小麦百农矮抗 58(AK58)面粉, 由河南科技学院小麦中心提供。

收稿日期: 2014-07-30

基金项目: 国家科技支撑计划(编号: 2011BAD07B02); 河南省重大科技专项(编号: 11110011010)。

作者简介: 闫文利(1986—), 男, 河南新乡人, 硕士, 主要从事小麦遗传育种研究。E-mail: yanwenli1990@163.com。

通信作者: 茹振钢(1958—), 教授, 硕士生导师, 主要从事小麦遗传育种研究。Tel: (0373)3040964; E-mail: rzgh58@sohu.com。

(GB/T 23817—2009 方法测定的回收率略高, 但差异不显著), 按照 GB/T 23817—2009 测定的回收率为 81.0%~95.0%。

3 小结

本研究所述方法较 GB/T 23817—2009《大豆中磺酰脲类除草剂残留量的测定》等标准方法更为简便, 极大地简化了样品的前处理过程, 缩短了分析时间, 并可显著减少试剂成本, 各项技术参数也都能满足日常检测工作的要求。运用该检测方法, 豇豆样品经简便易行的前处理流程处理后, 利用液相色谱-串联质谱进行分析, 能对豇豆中残留的多种磺酰脲类除草剂进行定性和定量检测, 方法快捷、简便, 具有较高的灵敏度和准确度, 方法的定量限均低于 GB 2763—2005《食品中农药最大残留限量》所规定的残留限量值, 适合于豇豆等蔬菜中磺酰脲类除草剂的定性定量分析。

参考文献:

- [1] 汤凯洁, 顾小红, 陶冠军, 等. 分子印迹固相萃取-液相色谱质谱联用对 4 种磺酰脲类除草剂残留的测定[J]. 分析测试学报, 2009, 28(12): 1401-1404.
- [2] 张敏恒. 磺酰脲类除草剂的发展现状、市场与未来趋势[J]. 农药, 2010, 49(4): 235-240.
- [3] 吕晓玲, 余永新, 王荣艳, 等. 磺酰脲类除草剂残留检测技术及其研究进展[J]. 分析测试学报, 2009, 28(7): 875-880.
- [4] 赵永刚, 张祥志, 胡冠九, 等. 固相萃取/高效液相色谱法测定地表水中磺酰脲类农药的研究[J]. 分析科学学报, 2008, 24(3): 287-290.
- [5] NY/T 2067—2011 土壤中 13 种磺酰脲类除草剂残留量的测定 液相色谱串联质谱法[S]. 北京: 中国农业出版社, 2011.