

底泥中除草剂灭草松残留量的测定

孙秀梅¹, 李晋成², 严忠雍¹, 陈思¹, 方益¹, 金衍健¹, 郝青¹, 郭远明¹

(1. 浙江省海洋水产研究所, 浙江省海洋渔业资源可持续利用技术研究重点实验室, 浙江舟山 316012; 2. 中国水产科学研究院, 北京 100141)

摘要 [目的]利用超高效液相色谱-三重四级杆串联质谱(UPLC-MS/MS),检测底泥中灭草松除草剂残留。[方法]底泥样品经索氏提取, C₁₈固相萃取柱净化后,在多反应监测(MRM)负离子电喷雾模式下进行UPLC-MS/MS分析。色谱柱为BEH C₁₈反相柱(50.0 mm × 2.1 mm, 1.7 μm),流动相为梯度变化的乙腈和2 mmol/L乙酸铵+0.1%甲酸水溶液。[结果]灭草松的检出限(S/N≥3)为0.3 μg/kg,在各自的考察浓度范围内线性关系良好(r≥0.998);在1.0~20.0 μg/kg添加水平内,平均加标回收率在82%~116%之间,RSD为3.6%~9.7%。[结论]利用该方法可以实现底泥中灭草松除草剂残留量的高灵敏度检测。

关键词 超高效液相色谱-串联质谱;底泥;灭草松

中图分类号 S482.4 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2015)36-025-02

Determination of Bentazone Herbicides in Sediment by Ultra Performance Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry
SUN Xiu-mei¹, LI Jin-cheng², YAN Zhong-yong¹ et al (1. Key Laboratory of Sustainable Utilization of Technology Research for Fishery of Zhejiang Province, Marine Fishery Institute of Zhejiang Province, Zhoushan, Zhejiang 316012; 2. Chinese Academy of Fishery Sciences, Beijing, 10041)

Abstract [Objective] A ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometric method (UPLC-MS/MS) was developed for the determination of bentazone herbicides in sediments. [Method] Samples were extracted by soxhlet extraction and purified by C₁₈ solid phase extraction (SPE) cartridges, and then analyzed by UPLC-MS/MS in multiple reaction monitoring (MRM) mode with negative electrospray ionization. The analytical column was BEH C₁₈ (50.0 mm × 2.1 mm, 1.7 μm) and the mobile phases was acetonitrile and water containing 0.1% (V/V) formic acid with 2 mmol/L ammonium acetate. [Result] The limits of detection (S/N≥3) were 0.3 μg/kg. All of the herbicides had good linear responses with r≥0.998 and the average recoveries in the spiked levels of 1.0-20.0 μg/kg ranged from 82% -116% with RSD of 3.6% -9.7%. [Conclusion] This method can realize highly sensitive detection of residual quantity of bentazone herbicide.

Key words Ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry; Sediment; Sediment; Bentazone

灭草松是触杀型的苯脲除草剂,主要用于芽后杂草的防除,在我国被广泛用于玉米、大豆、水稻及牧场等除草。由于该类型除草剂及其代谢产物存在一定的毒性和致癌性,其残留会对生态环境和人体健康构成潜在威胁。灭草松除草剂的方法多为气相色谱法,但它需要衍生。该方法反应条件严格,重复性差,且试剂毒性大^[1-4]。近年新发展起来的高效液相色谱技术恰好能弥补气相色谱法的不足,可对80%的有机物进行分离和分析,且不需要衍生,尤其适用于极性较强、沸点高、分子量大的化合物^[5-6]。目前,仅有少量文献报道土壤中灭草松残留的分析检测,且大多是高效液相色谱法^[7-8]。笔者利用实验室现有的超高效液相色谱质谱联用仪,选用合适的色谱柱,通过改变流动相的类型和配比来寻找合适的分析测试条件,为灭草松在底泥中的识别和定量化研究提供科学方法。

1 材料与方 法

1.1 仪器 超高效液相色谱/串联质谱(Waters ACQUITY UPLC),配电子轰击电离(ESI)离子源,氮吹浓缩仪器(美国LABCONCO公司),旋转蒸发仪(瑞士Buchi),涡轮混合器,高速离心机(德国Eppendorf)。

1.2 试验条件

1.2.1 液相色谱条件。色谱柱为BEH C₁₈柱(50 mm × 2.1

mm, 1.7 μm),柱温为40℃。以水溶液(A相)和乙腈(B相)流动相进行线性梯度洗脱,具体梯度洗脱条件见表1。

表1 液相色谱梯度洗脱程序

时间 min	流速 μL/min	流动相 A(2 mmol/L 乙酸铵+浓度0.1% 甲酸水溶液) // %	流动相 B (乙腈) // %
0	300	80	20
2.50	300	2	98
4.00	300	2	98
4.50	300	80	20
5.00	300	80	0

1.2.2 质谱条件。离子源为电喷雾离子源(ESI),扫描方式为负离子扫描;检测方式为多反应监测(MRM)模式;离子源温度为120℃;雾化温度380℃;雾化气流速600 L/h;锥孔气流速50 L/h;灭草松定量离子对(m/z)238.9/131.9,定性离子对238.9/197.0,其碰撞电压分别为28、20 V;灭草松-D7定量离子对245.9/131.9,其碰撞电压为28 V。

2 结果与分析

2.1 样品前处理条件的优化 一般采用的前处理方法有索氏提取、超声萃取和加速溶剂萃取,其中加速溶剂萃取操作简便、绿色环保,有利于批量处理,但受仪器条件的限制,加速溶剂萃取的普及性有局限,超声萃取部分除草剂的萃取效率低。因此,采用索氏提取对底泥中除草剂进行提取。该研究考察了提取溶剂、温度、时间等因素对提取效果的影响,发现萃取溶剂为丙酮+二氯甲烷(1:2, V/V)混合有机溶剂,索氏抽提12 h。在净化程序上,分别考察了3种固相萃取柱

基金项目 国家自然科学基金项目(21407127);公益性行业(农业)科研专项(201503108);浙江省属科研院所专项(2015F10029)。

作者简介 孙秀梅(1982-),女,山东临沂人,高级工程师,从事渔业环境及水产品质量安全方面的研究。

收稿日期 2015-11-25

C₁₈、佛罗里土柱和硅胶柱的净化效果,发现当采用 C₁₈ 固相萃取柱净化时,基线平稳且杂质较好,回收率高,效果好。因此,采用 C₁₈ 固相萃取柱对样品进行净化处理。

2.2 液相色谱和质谱方法优化 分别考察了 BEH C₁₈ 柱(100 mm × 2.1 mm, 1.7 μm) 和 BEH C₁₈ 柱(50.0 mm × 2.1 mm, 1.7 μm) 对除草剂的分析性能。研究表明,100 mm 的 C₁₈ 柱待测物保留时间过长,不适合大批量样品的快速测试,而 50 mm 的 C₁₈ 柱可以在较短时间内全部出峰完毕,且峰形良好,因此选择 50 mm 的 C₁₈ 柱进行分析。为了达到最佳的色谱分离和质谱检测效果,考察了以乙腈-水、乙腈-水(2 mmol/L 乙酸铵)和乙腈-水(2 mmol/L 乙酸铵+浓度 0.1% 甲酸)为流动相时的分离情况。研究表明,水中加入 2 mmol/L 乙酸铵+浓度 0.1% 甲酸,能改善除草剂峰形,说明加缓冲液后更有利于化合物的离子化,因此选择含 2 mmol/L 乙酸铵+浓度 0.1% 甲酸溶液作为流动相的水相。采用选择离子扫描模式(MRM),可避免待测物之间的相互干扰和杂质干扰,使得定性定量分析更准确。

2.3 线性关系与检出限 在确定的最佳分析条件下,将不同浓度标准溶液进行 LC-MS/MS 分析。以待测物浓度为横坐标,以待测物峰面积为纵坐标,采取不加权最小二乘法进行回归运算,求得除草剂的线性回归方程。结果表明,灭草松在 1.5 ~ 150.0 ng/ml 的浓度范围内线性关系良好,相关系数(*r*)均大于 0.998,满足定量分析的要求。以 $S/N \geq 3$ 确定方法的检出限为 0.3 μg/kg。

2.4 回收率和精密度 取底泥样品,分别制得浓度为 1.0、

10.0 和 20.0 μg/kg 添加水平的加标样品,按照优化的方法进行样品的提取和净化,采取外标法和内标法定量计算,每个浓度水平重复测定 6 次。研究表明,当添加浓度水平为 1.0 ~ 20.0 μg/kg 时,在鱼肉中灭草松回收率为 82% ~ 116%, *RSD* 为 3.6% ~ 9.7%。该方法显示出较好的回收率和精密度,满足底泥中灭草松残留检测的要求。

3 结论

该研究建立了一种能对底泥中灭草松除草剂快速分析的超高效液相色谱-三重四级杆串联质谱分析方法。该方法能有效地消除底泥样品中复杂基质的干扰,保证分析检测的准确性,方法灵敏度高,可以满足实际样品测试的需要。

参考文献

- [1] 中华人民共和国黑龙江出入境检验检疫局. 进出口粮谷中灭草松残留量检验方法[S]. 北京:中国标准出版社,2010.
- [2] 周珊,雒丽娜,马腾蛟,等. 气相色谱法测定饮用水及其源水中灭草松和 2,4-滴[J]. 分析试验室,2007(3):89-92.
- [3] 彭敏,刘传生. 固相萃取-柱前衍生-气相色谱-质谱联用法测定水中 2,4-滴和灭草松[J]. 理化检验-化学分册,2009,45(7):791-793.
- [4] 王建,贾斌,林秋萍,等. 气相色谱-质谱联用法确证蔬菜中多种农药残留[J]. 理化检验-化学分册,2006,42(7):533-535.
- [5] 赵进英,辛暨华,郭英娜,等. 固相萃取富集-高效液相色谱法分离检测水中 3 种苯胺除草剂[J]. 分析化学,2004,32(7):939-942.
- [6] 陈飒,劳敏华,欧桂秋,等. 固相萃取-高效液相色谱法测定水中灭草松,莠去津和 2,4-D 的技术要点[J]. 环境化学,2012,31(4):560-562.
- [7] 张永兵,杨文武,丁金美,等. 快速溶剂萃取固相萃取净化超高效液相色谱法在土壤农药残留测定中的应用[J]. 安徽农业科学,2013,41(33):12870-12871.
- [8] 王点点,石利利,宋宇慧. QuEChERS-高效液相色谱法测定稻田土壤、糙米和秸秆中的灭草松残留[J]. 分析试验室,2012,31(6):1-5.

(上接第 18 页)

表 3 2015 年试验品种部分农艺性状与产量

品种	株高 cm	节数 个	分枝 个	单株有效荚 个	单株粒数 粒	百粒重 g	小区产量 kg
安豆 203	78.2	17.2	1.6	54.0	124.4	25.0	40.00
华豆 10 号	79.2	15.7	0.0	39.2	95.9	21.5	37.10
省生(CK)	92.8	17.0	0.3	31.2	79.2	26.5	38.39
潍豆 126	88.2	14.6	1.2	68.3	138.2	15.4	40.38

表 4 2015 年不同品种农艺性状与产量的相关性分析

指标	株高	节数	分枝	有效荚	单株粒数	百粒重	产量
株高	1						
节数	-0.11	1					
分枝	-0.22	0.06	1				
有效荚	-0.16	-0.59	0.77	1			
单株粒数	-0.29	-0.50	0.82	0.99**	1		
百粒重	-0.03	0.97**	-0.19	-0.77	-0.69	1	
产量	0.12	-0.14	0.93*	0.82	0.81	-0.35	1

3 结论与讨论

2014、2015 年 2 年试验结果表明,株高与产量的相关性不确定,说明植株高度不是判断品种是否高产的标准。百粒重、节数与产量都呈负相关,选择百粒重略低于对照品种百粒重,节数少于对照节数的品种高产潜力大。有效荚、粒数、

分枝与产量呈正相关,在田间选择时应尽量选择更多单株荚数、单株粒数的品种。百粒重与单株粒数呈负相关,该结论与李永孝^[6]观点相同。该研究中对对照品种百粒重比较大,选育多荚、多粒品种是重点突破口。因此,在选择品种参加山东省区域试验、生产试验时,尽量选择节数、百粒重小于对照品种的,有效荚、分枝数、单株粒数高于对照的品种容易获得增产。

该研究以德州点承担山东省大豆生产试验数据进行分析,试验结果不一定适宜多地应用,且没有多年重复试验,实践中应根据各地实际情况综合考察研究。

参考文献

- [1] 成雪峰. 黄淮海地区大豆品种主要农艺性状演变分析[J]. 大豆科学, 2011,30(4):585-589.
- [2] 徐冉,张礼凤,王彩洁. 山东省审定大豆品种的产量、品质及株型演变[J]. 中国油料作物学报,2007(3):242-247.
- [3] 王欢欢,贾亚涛,许鹏飞,等. 谷子主要农艺性状与产量的关系[J]. 山西农业科学,2014,42(7):657-659,754.
- [4] 郑丽敏,杜运恒,周青,等. 利用灰色综合评判法分析安豆 203 在山东区试中的表现[J]. 大豆科技,2015(2):12-17.
- [5] 童燕,肖敬德,张光,等. 大豆主要农艺性状与品质性状间的灰色关联度分析[J]. 大豆科技,2013(2):26-29.
- [6] 李永孝. 山东大豆[M]. 济南:山东科学技术出版社,1999.