

固相萃取-超高效液相色谱-串联质谱法 测定土壤中咪唑乙烟酸的残留量

张昌朋, 刘新刚, 徐 军, 董丰收, 郑永权

(农业部农药化学与应用重点开放实验室, 中国农业科学院植物保护研究所, 北京 100193)

摘 要 采用固相萃取(SPE)为样品前处理方法,建立了超高效液相色谱-串联四极杆质谱联用(UPLC-MS/MS)检测土壤中咪唑乙烟酸的残留分析方法。土壤样品经 $0.1\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的氯化铵与氨水缓冲液($\text{pH}=10$)超声提取、 C_{18} SPE柱净化后,应用超高效液相色谱串联四级杆质谱仪多离子反应监测(MRM)定量检测,分别以碎片离子 $m/z\ 290>176$ 和 $m/z\ 290>245$ 进行外标法定量。结果表明,在 $0.01\sim 0.5\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 添加水平范围内咪唑乙烟酸的平均添加回收率在 $83.47\%\sim 101.70\%$ 之间,相对标准偏差在 $4.15\%\sim 5.28\%$ 之间,咪唑乙烟酸的定量检出限(LOQ)为 $0.075\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。该方法灵敏度高,操作简单,定量准确,可用于土壤中咪唑乙烟酸的残留分析。

关键词 超高效液相色谱-串联质谱 固相萃取 咪唑乙烟酸 土壤

中图分类号 X830.2 **文献标志码** A **文章编号** 1672-2043(2010)10-2041-04

Determination of Imazethapyr Residues in Soil Using SPE and UPLC-MS/MS

ZHANG Chang-peng, LIU Xin-gang, XU Jun, DONG Feng-shou, ZHENG Yong-quan

(Key Laboratory of Pesticide Chemistry and Application, Ministry of Agriculture, Institute of Plant Protection, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100193, China)

Abstract A method for the determination of imazethapyr residues in soil was estimated based on solid phase extraction and ultra-performance liquid chromatography-mass spectrometry (UPLC-MS/MS). The samples were extracted with $0.1\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}\text{ NH}_4\text{Cl}/\text{NH}_3\cdot\text{H}_2\text{O}$ ($\text{pH}=10$) buffer by ultrasonic wave, and cleaned up by C_{18} SPE cartridge. The imazethapyr residues were analyzed by UPLC-MS/MS under multiple-reaction monitoring mode. The qualitative results were obtained based on retention time, the precursor ion and two daughter ions ($m/z\ 290>176$ ion and $m/z\ 290>245$ ion), and the quantitative results were on the intention of the characteristic $m/z\ 290>176$ ion. Average recoveries of imazethapyr in soil samples were found in the range of $83.47\%\sim 101.70\%$ at three spiking levels from $0.01\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ to $0.5\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ with relative standard deviations of $4.15\%\sim 5.28\%$. Limit of quantification of imazethapyr was $0.075\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$. The method is simple and suitable for the routine and confirmation analysis.

Keywords UPLC-MS/MS; SPE; imazethapyr; soil

咪唑乙烟酸(imazethapyr)属于咪唑啉酮类除草剂,化学名称为5-乙基-2-(4-异丙基-4-甲基-5-氧代-2-咪唑啉-2-基)-3-吡啶羧酸,该除草剂活性高、用量低、杀草谱宽、选择性强,广泛用于大豆田、花生

地及林地杂草的防除,在世界除草剂市场中占有重要的地位^[1-3]。该除草剂在土壤中不易挥发和光解,残效期长,其在土壤中的残留对某些后茬作物及非靶植物等存在较严重的药害问题^[4-5]。因此,建立咪唑乙烟酸在土壤中的残留分析方法是很有必要的。

关于咪唑乙烟酸的残留分析方法,目前国内外报道主要有液相色谱法^[6-7]、气相色谱法^[8-9]。尽管也有一些报道是关于用液相色谱质谱^[10]的方法,但是处理过程繁琐,且费用较高。传统的前处理方法有振荡-过滤、液-液萃取等,这些方法的主要缺点是有机溶剂用量大,污染环境,劳动强度大,步骤繁琐,周期长,易发

收稿日期 2010-04-01

基金项目 中国农业科学院植物保护研究所中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金(2010YW12) 农业部“农药化学与应用”重点开放实验室开放课题(MOAPCA200909)

作者简介 张昌朋(1981—),男,河南南阳人,博士研究生,主要从事农药残留与环境毒理研究。

E-mail zhangchangpeng1981@126.com

通讯作者 郑永权 E-mail yqzheng@ippcaas.cn

生样品损失等。

本文建立了超高效液相色谱-串联四极杆质谱联用测定土壤中咪唑乙烟酸残留分析方法。采用缓冲液提取, SPE 柱净化, 超高效液相色谱-串联四极杆液质联用方法 (UPLC-MS/MS) 检测。该分析方法采用 UPLC-MS/MS 方法进行定性和定量, 具有较好的特异性。目前, 国内尚未见相关报道。

1 材料与方法

1.1 仪器与药剂

咪唑乙烟酸标准品 (纯度 99.0%, 德国 Dr. Ehrenstorfer GmbH 公司) ; 甲醇、甲酸为色谱纯 ; 冰 (超纯水) ; C_{18} (AGT/Cleanert ODS-SPE) SPE 柱 ; 正己烷和二氯甲烷为分析纯。

超高效液相色谱-串联四极杆液质联用仪 (Acquity UPLC-TQD, Waters 公司) ; Acquity UPLC[®] BEH C_{18} 色谱柱 1.7 μm , 2.1 mm $\times$ 50 mm (Waters) ; KQ-500 型超声波清洗器 (昆山市超声仪器有限公司) ; TG16-WS 台式高速离心机 (长沙湘仪离心机仪器有限公司) ; BF-2000 氮气吹干仪 (北京八方世纪科技有限公司) ; Filter Unit 滤膜 (0.22 μm , MILLEX-GV) 。

1.2 液相色谱/质谱检测条件

1.2.1 液相色谱条件

柱温 45 $^{\circ}\text{C}$; 流动相为 VA (甲醇) ; VB (0.2% 甲酸水溶液) ; 流速 0.3 mL $\cdot$ min⁻¹ ; 进样量 3 μL 。二元梯度洗脱分离 0~2.5 min, 10%A ; 2.5~2.6 min, 90%A ; 2.6~4.6 min, 10%A。

1.2.2 质谱条件

电喷雾离子源, 正离子电离 (ESI+) ; 毛细管电压 3.0 kV ; 离子源温度 120 $^{\circ}\text{C}$; 去溶剂温度 350 $^{\circ}\text{C}$; 去溶剂气流量 $N_2=500\text{ L}\cdot\text{h}^{-1}$; 锥孔反吹气 $N_2=50\text{ L}\cdot\text{h}^{-1}$; 碰撞气为氩气。定性离子对 290>245、定量离子对 290>176, 采用 MRM 多反应离子检测模式。

1.3 标样溶液的配制

准确称取咪唑乙烟酸 (99.0%) 标准品 0.010 1 g, 用甲醇 (色谱纯) 做溶剂定容到 100 mL, 配置成浓度为 100 mg $\cdot$ L⁻¹ 的储备液, 置于 4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存。准确移取适量标准储备液, 配置浓度为 0.01、0.02、0.05、0.1、0.5、2 mg $\cdot$ L⁻¹ 的咪唑乙烟酸标准溶液系列。

1.4 样品前处理方法

提取 : 准确称取土壤样品 10 g 于 50 mL 聚四氟乙烯具塞离心管中, 加入 25 mL 0.1 mol $\cdot$ L⁻¹ 的氯化铵与氨水缓冲液 (pH=10) , 涡旋振荡 1 min, 超声波提取

20 min, 置于台式高速离心机以 6 000 r $\cdot$ min⁻¹ 的速度离心 3 min, 抽取 10 mL 上清液于试管中, 加盐酸酸化到 pH=2, 待用。

净化 : 500 mg/6 mL C_{18} (AGT/Cleanert ODS-SPE) SPE 柱依次用 6 mL 正己烷、二氯甲烷、甲醇、水、0.01 mol $\cdot$ L⁻¹ 盐酸水溶液活化, 上样 5 mL。然后用 6 mL 水、6 mL 正己烷洗涤, 抽干 30 s。最后用 13 mL 二氯甲烷洗脱至具塞试管中, 氮吹至干, 用甲醇定容, 过 0.22 μm 有机系滤膜于自动进样瓶中, 待测。

2 结果与分析

2.1 检测条件的选择

为了获得最佳的灵敏度和分离效果, 采用直接进样方式, 扫描范围 m/z 为 150~650 ; 选择的离子源为电喷雾离子源, 正离子电离 (ESI+) ; 流动相为二元 (甲醇和 0.2% 甲酸水溶液) 梯度洗脱。试验结果表明, 在表 1 所示的选择监控离子、锥孔电压及碰撞能量下, 电喷雾离子化可使咪唑乙烟酸具有较好的电离效果并获得特征离子峰 $[M+H]^+$ 。在此基础上, 进一步优化色谱和质谱参数。通过试验证明, 采用甲醇-甲酸水体系为流动相, 在梯度洗脱条件下, 可得到较高的灵敏度、重现性及峰形 (图 1)。

表 1 咪唑乙烟酸的选择监控离子、锥孔电压及碰撞能量

Table 1 Precursor ions and product ions of imazethapyr in the positive ion mode

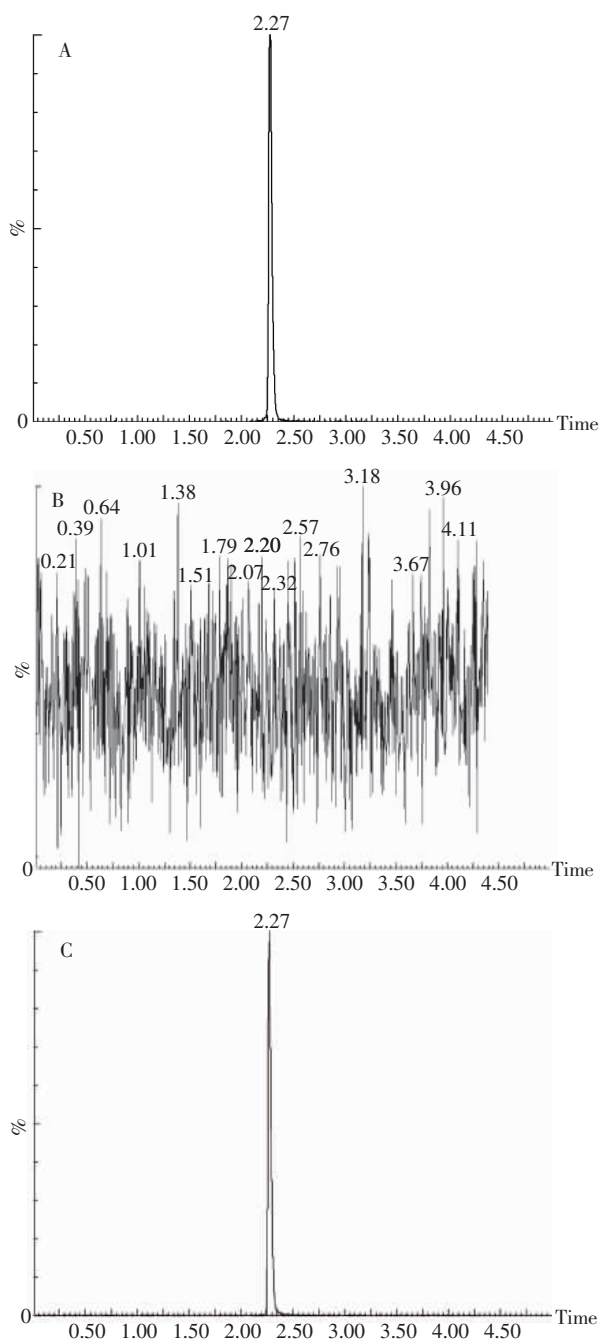
项目	母离子	子离子/ m/z	锥孔电压/V	碰撞能量/V
1	290	176	33	22
2	290	245	33	22

2.2 分析方法线性关系的测定

采用外标法定量, 在上述仪器条件下进行测定, 以 MS/MS 定量离子色谱峰面积 (A) 对质量浓度 (C) 绘制标准曲线。结果显示, 咪唑乙烟酸在 0.01~2 mg $\cdot$ L⁻¹ 范围内线性关系良好, 线性方程为 $y=70\ 919x+3\ 437.4$, 相关系数 r 为 0.997 9。

2.3 方法的回收率和检出限

根据咪唑乙烟酸在 UPLC-MS/MS 的响应情况, 在 0.01~0.5 mg $\cdot$ kg⁻¹ 范围内分别设定了 3 种添加浓度, 每个添加浓度设 5 个重复。然后按上述提取、净化及测定步骤, 进行添加回收率试验。得到土壤样品中咪唑乙烟酸的添加回收率和相对标准偏差 (RSD), 见表 2。由表 2 可知, 咪唑乙烟酸在土壤中的平均回收率为 83.47%~101.70%, 相对标准偏差为 4.15%~



(A) 咪唑乙烟酸标准品 ($0.05 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 保留时间 2.27 min) ;
(B) 土壤空白 ;(C) 添加土壤样品 ($0.05 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)
(A) The standard of imazethapyr ($0.05 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, $t = 2.27 \text{ min}$) ;
(B) Black soil sample ;(C) Spiked soil sample ($0.05 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)

图 1 咪唑乙烟酸总离子流图

Figure 1 Total ion chromatogram of imazethapyr

5.28%。基质的添加回收和空白的色谱图见图 1。以最低添加浓度 $0.01 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的添加回收率的色谱图进行衡量,该方法的灵敏度以噪音信号的 10 倍确定,得出最低检测浓度 (LOQ) 为 $0.075 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。因此该方法完全满足农药残留分析中对准确度、精密度和灵敏度

表 2 咪唑乙烟酸在土壤中的回收率及相对标准偏差 ($n=5$)

Table 2 Recoveries and relative standard deviation (RSD) of imazethapyr in soil samples ($n=5$)

添加浓度/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	回收率/%					平均回 收率/%	相对标准 偏差/%
	1	2	3	4	5		
0.01	108.34	107.14	95.63	102.14	103.25	101.70	5.28
0.05	81.63	82.35	86.07	84.45	82.83	83.47	4.54
0.5	86.71	82.45	83.67	85.23	81.28	83.87	4.15

的要求。

3 讨论

国外所报道的方法^[10]采用 HPLC/MS 分析,不仅需要 NaOH 溶液提取,酸化,离心,过 C_{18} SPE 及串联的阴离子 (SAE) /阳离子 (SCX) 离子交换柱 SPE 净化,还需要脱盐 (过 RP-102 SPE 柱),分析条件比较苛刻,不适合一般实验室操作。国内报道的检测方法^[11]需要使用大量的二氯甲烷萃取,且净化效果不明显。马婧炜等^[7]采用前处理方法的原理与本文基本一致,提取完成后采用的是抽滤,本试验采用的是离心,本试验过程相对简单。从咪唑乙烟酸的添加回收试验色谱图上可以看出,本试验的净化分离效果比前者的效果好。本文采用的方法由于样品前处理过程相对简单,省去了大量有机溶剂的使用,回收率高,重复性好,净化分离效果好,而且最低检测浓度比较低,适合于其在土壤中的残留量分析。

4 结论

建立了土壤中咪唑乙烟酸残留量的超高压液相色谱-串联四级杆质谱测定方法。该方法咪唑乙烟酸在 $0.01 \sim 2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度范围内呈良好的线性关系,在土壤中的平均回收率为 83.47%~101.70%,相对标准偏差为 4.15%~5.28%,最低检测浓度 (LOQ) 为 $0.075 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。该方法操作简便,准确可靠,可满足农药残留分析的要求,并可用于大量样品的快速检测。

参考文献:

- [1] 李海屏. 20 世纪 80 年代以来世界除草剂新品种开发进展及特点[J]. 农药科学与管理, 2004, 25 (4) : 28-31.
LI Hai-ping. Developing progress and characteristics of herbicides novel varieties in the world from 1980[J]. Pesticide Science and Administration, 2004, 25 (4) : 28-31.
- [2] 苏少泉. 抗咪唑啉酮类除草剂作物的发展与未来[J]. 现代农药, 2006, 5 (1) : 1-4.
SU Shao-quan. The development and future of imidazolinone herbi-

- cide-resistant crops[J]. *Modern Agrochemicals*, 2006, 5 (1) : 1-4.
- [3] 赵爽, 叶非. 咪唑啉酮类除草剂的应用及降解[J]. 植物保护, 2009, 35 (2) : 15-19.
- ZHAO Shuang, YE Fei. Applications of imidazolinone herbicide and its degradation[J]. *Plant Protection*, 2009, 35 (2) : 15-19.
- [4] 苏少泉. 长残留除草剂对后茬作物安全性问题[J]. 农药, 1998, 37 (12) : 4-7.
- SU Shao-quan. The influence on the subsequent crops of long residue herbicides[J]. *Agrochemicals*, 1998, 37 (12) : 4-7.
- [5] Avila L A, Massey J H, Senseman S A, et al. Imazethapyr aqueous photolysis, reaction quantum yield, and hydroxyl radical rate constant[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2006, 54 : 2635-2639.
- [6] 陈婷婷, 崔兆杰, 李强, 等. 加速溶剂萃取-高效液相色谱法测定土壤中咪唑乙烟酸残留量[J]. 分析实验室, 2007, 26 (9) : 95-98.
- CHEN Ting-ting, CUI Zhao-jie, LI Qiang, et al. Determination of imazethapyr residues in soil by accelerated solvent extraction-HPLC[J]. *Chinese Journal of Analysis Laboratory*, 2007, 26 (9) : 95-98.
- [7] 马婧伟, 陈黎, 王金芳, 等. SPE-HPLC 法测定土壤中咪唑乙烟酸的残留量[J]. 农药, 2007, 46 (12) : 843-845.
- MA Jing-wei, CHEN Li, WANG Jin-fang, et al. Determination of imazethapyr residues in soil by SPE-HPLC [J]. *Agrochemicals*, 2007, 46 (12) : 843-845.
- [8] 李伟格, 吕静, 江涌. 普杀特在大豆上的残留动态[J]. 农村生态环境学报, 1995, 11 (2) : 32-34.
- LI Wei-ge, LV Jing, JIANG Yong. Dynamic of pursuit (imazethapyr) degradation on soybean[J]. *Journal of Ecology and Rural Environment*, 1995, 11 (2) : 32-34.
- [9] Abul K M A, Mohammed A, Norlida O, et al. Synthesis of dimethyl derivatives of imidazolinone herbicides. Their use in efficient gas chromatographic methods for the determination of these herbicides[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2000, 48 (12) : 5893-5902.
- [10] Krynsky A J, Stout J S, Nejad H, et al. Multiresidue determination and confirmation of imidazolinone herbicides in soil by high-performance liquid chromatography/electrospray ionization mass spectrometry[J]. *Journal of AOAC International*, 1999, 82 : 956-962.
- [11] 赵云和, 杨靖华, 段玉玺, 等. 咪草烟在大豆田土壤中的残留动态[J]. 农药, 2007, 46 (10) : 696-698.
- ZHAO Yun-he, YANG Jing-hua, DUAN Yu-xi, et al. The residue dynamics in soybean soil of imazethapyr[J]. *Agrochemicals*, 2007, 46 (10) : 696-698.

欢迎订阅

2011 年《中国农业科学》中、英文版

《中国农业科学》中、英文版由农业部主管、中国农业科学院主办。主要刊登农牧业基础科学和应用基础科学研究论文、综述、简报等。设有作物遗传育种·耕作栽培·生理生化·植物保护·土壤肥料·节水灌溉·农业生态环境·园艺·园林·贮藏·保鲜·加工·畜牧·兽医等栏目。读者对象是国内外农业科研院所、农业大专院校的科研、教学人员。

《中国农业科学》中文版影响因子、总被引频次连续多年居全国农业科技期刊最前列或前列位次。1999 年起连续 10 年获“国家自然科学基金重点学术期刊专项基金”资助, 2001 年入选中国期刊方阵双高期刊, 1999 年获“首届国家期刊奖”, 2003、2005 年获“第二、三届全国国家期刊奖提名奖”, 2004-2006 年连续荣获第四、五届全国农业优秀期刊特等奖, 2001 年起 6 次被中信所授予“百种中国杰出学术期刊”称号, 2008 年获中国科技信息研究所“精品科技期刊”称号, 及武汉大学中国科学评价中心“权威期刊”称号。在北京大学《中文核心期刊要目总览(2008 年版)》中位居“农业综合类核心期刊表”首位。2010 年 1 月起中文版改为半月刊, 将有更多最新农业科研成果通过《中国农业科学》及时报道。

《中国农业科学》英文版(Agricultural Sciences in China) 2002 年创刊, 2006 年 1 月起正式与国际著名出版集团 Elsevier 合作, 海外发行由 Elsevier 全面代理, 全文数据在 ScienceDirect 平台面向世界发行。2010 年 1 月起英文版页码增至 160 页。2010 年 Agricultural Sciences in China 被 SCIE 收录。

《中国农业科学》中文版大 16 开, 每月 1、16 日出版, 国内外公开发行。每期 224 页, 定价 49.50 元, 全年定价 1188.00 元, 国内统一刊号 CN11-1328/S, 国际标准刊号 ISSN0578-1752, 邮发代号 2-138, 国外代号 BM43。

《中国农业科学》英文版大 16 开, 每月 20 日出版, 国内外公开发行。每期 160 页, 国内订价 36.00 元, 全年 432.00 元, 国内统一刊号 CN11-4720/S, 国际标准刊号 ISSN1671-2927, 邮发代号 2-851, 国外代号: 1591M。

地址 北京 中关村南大街 12 号《中国农业科学》编辑部

电话 010-82109808, 82106279, 82106283, 82106282

网址 www.ChinaAgriSci.com

邮编 100081

传真 010-82106247

邮箱 zgnykx@mail.caas.net.cn