

## 超高效液相色谱-串联质谱法测定 稻田水体中的甲磺隆、苄嘧磺隆残留

杨俊, 王文辉, 王齐, 孙晓东  
(昆明理工大学分析测试研究中心, 云南 昆明 650093)

**摘要:**建立了水体中甲磺隆、苄嘧磺隆残留检测的超高效液相色谱-串联质谱法。水样中的甲磺隆和苄嘧磺隆经  $C_{18}$  固相萃取小柱萃取, 然后用 Waters Acquity UPLC BEH  $C_{18}$  色谱柱(50 mm × 2.1 mm × 1.7 μm) 分离, 以 0.05% 乙酸/ 甲醇为流动相进行梯度洗脱, 流速 0.4 mL/min, 采用正离子电喷雾电离模式测定, 外标法定量。结果表明: 甲磺隆、苄嘧磺隆在 1.0~500.0 μg/L 的浓度范围内呈良好的线性关系, 相关系数分别为 0.9997 和 0.9999, 检出限分别为 0.0025 μg/L 和 0.005 μg/L, 回收率为 87.6%~98.2%, 相对标准偏差小于 3.5%。

**关键词:** 超高效液相色谱-串联质谱(UPLC-MS/MS); 稻田水体; 甲磺隆; 苄嘧磺隆

中图分类号: O 657.63 文献标识码: A 文章编号: 1004-2997(2011)03-0176-05

## Determination of Metsulfuron-Methyl and Bensulfuron-Methyl in Paddyfield Water by Ultra Performance Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry

YANG Jun, WANG Weirhui, WANG Qi, SUN Xiaodong  
(Research Center for Analysis and Measurement, Kunming University of  
Science and Technology, Kunming 650093, China)

**Abstract:** Metsulfuron-methyl and bensulfuron-methyl in paddyfield water were determined by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry(UPLC-MS/MS). The remains of metsulfuron-methyl and bensulfuron-methyl were extracted with solid phase extraction  $C_{18}$  cartridge. The separation of metsulfuron-methyl and bensulfuron-methyl was performed on Waters Acquity UPLC system with a BEH  $C_{18}$  column (50 mm × 2.1 mm × 1.7 μm) and with a linear gradient elution ( $CH_3OH$  and 0.05% acetic acid as mobile phase) at a flow rate of 0.4 mL/min, and detected by MS/MS with positive electrospray ionization mode. The method used external standard for quantification. The calibration curves have good linear correlation in the concentration range of 1.0—500 μg/L ( $r = 0.9997—0.9999$ ). The limits of detection are 0.0025 μg/L and 0.005 μg/L, respectively. The recovery is in the range of 87.6%—98.2%, and the RSD is less than 3.5%.

**Key words:** ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry(UPLC-

MS/MS); paddyfield water; metsulfuron methyl; bensulfuron methyl

甲磺隆(metsulfuron methyl)和苄嘧磺隆(bensulfuron methyl)是磺酰胺类除草剂,具有高效、广谱、低毒、用量少、易降解等特点,被广泛用于长江流域及其以南地区稻田杂草的防治<sup>[1-2]</sup>。它们能有效抑制杂草的危害,但除草剂残留,以及对农业环境的危害也日益严重。除草剂的毒性虽然比一般的杀虫剂低得多,但长期大量使用,使其在农作物体内、土壤、水体中残留,又通过食物链危害整个生态系统的安全。因此,对环境中除草剂残留进行分析检测就显得尤为重要。苄嘧磺隆及甲磺隆对稗草、矮慈菇、四叶萍等具有较好的防治效果,是目前移栽稻田较理想的一次性除草剂。但由于它是选择性内吸除草剂,残留时间较长,如果水体中该药残留较高,作物易发生药害,同时也会随着农田污水的排放进入整个环境水体,危害生态系统安全。

目前,检测甲磺隆和苄嘧磺隆类化合物的方法有生物测定法<sup>[3]</sup>、酶联免疫分析(ELISA)法<sup>[4-5]</sup>、气相色谱法<sup>[6]</sup>、高效液相色谱法<sup>[7-8]</sup>和毛细管电泳法<sup>[9]</sup>。生物测定法具有费用小、操作简单、精度高、能反映对植物综合效应等优点,但其缺乏专一性,重现性差。酶联免疫分析是一种快速、有效、专一性强的检测方法,但其检测范围仅为 20~100 mg/kg,达不到农药残留检测限的要求。气相色谱法是农药残留分析的经典方法,但由于磺酰胺类除草剂挥发性低,且对热不稳定,使该类化合物的直接测定受到限制,通常要进行如偶氮甲烷衍生化、溴化戊氟苯基衍生化或水解成芳基磺酰胺等各种衍生化后,才可用气相色谱法进行分析,所以该方法没有被广泛用于磺酰胺类除草剂的残留分析。毛细管电泳法由于要求进样体积低而达不到分析方法的灵敏度要求。磺酰胺类化合物具有不易挥发、对热不稳定的特点,对这类化合物的测定高效液相色谱优越于气相色谱,所以液相色谱法是目前分析磺酰胺类化合物最常用的方法,但带紫外检测器的高效液相色谱法存在灵敏度低,最低检出限只能达到 0.3 μg/L,缺乏专一性,需要很多净化前处理。本工作采用质谱作为检测器,利用超高效液相色谱-串联质谱(UPLC-MS/MS)法分析磺酰胺除草剂的痕量残留。

## 1 实验部分

### 1.1 仪器与试剂

Acquity Ultra Performance LC™ 超高效液相色谱仪:美国 Waters 公司产品; Acquity UPLC-Quattro Premier 三重四极杆串联质谱仪:美国 Waters 公司产品,配备电喷雾离子源(ESI),以及 Masslynx 4.1 数据采集软件; Supelco C<sub>18</sub> 固相萃取柱(500 g/3 L):美国 Supelco 公司产品。

甲磺隆、苄嘧磺隆(纯度不小于 98.0%):美国 Sigma 公司产品;乙腈(色谱纯):美国 Fisher 公司产品;乙酸为分析纯;实验用水为超纯水;稻田水样:由云南省农业科学院农环所提供。

### 1.2 标准溶液的配制

50.0 mg/L 甲磺隆、苄嘧磺隆标准储备液:分别精密称取 5.0 mg 甲磺隆、苄嘧磺隆,用乙腈溶解,定容至 100 mL 容量瓶中,摇匀,4 ℃保存,待用。

0.5 mg/L 混合标准溶液:分别移取 1.0 mL 甲磺隆、苄嘧磺隆标准储备液,用乙腈定容至 100 mL 容量瓶中,摇匀。

### 1.3 色谱条件

色谱柱:Acquity UPLC™ BEH C<sub>18</sub> 柱(50 mm × 2.1 mm × 1.7 μm);流动相:A 液为 0.05% 乙酸,B 液为甲醇;流速 0.4 mL/min,梯度洗脱程序列于表 1;柱温 30 ℃;进样量 10 μL。

表 1 流动相梯度表

Table 1 Grade table of mobile phase

时间/min	A/%	B/%
0.0	60	40
3.0	20	80
3.5	20	80
4.0	60	40
5.0	60	40

### 1.4 质谱条件

ESI<sup>+</sup> 离子化,毛细管电压 3.00 kV,锥孔电压 20 V,二级锥孔电压 3 V,碰撞电压 0.2 V,离子源温度 120 ℃,脱溶剂气温度 350 ℃,脱溶剂气流速 800 L/h,锥孔反吹气流量 20 L/h,其他参数列于表 2。

表 2 甲磺隆、苄嘧磺隆的质谱参数

Table 2 Optimized MS parameters of metsulfuron methyl and bensulfuron methyl

被测物	母离子/ ( $m/z$ )	子离子/ ( $m/z$ )	锥孔电压/ V	碰撞能量/ eV
甲磺隆	381.9	167.0	20	15
苄嘧磺隆	411.0	149.1	20	18

### 1.5 样品前处理

量取 20.0 mL 水样(若水样混浊,则先用 0.45  $\mu\text{m}$  滤膜过滤),用 1 mol/L 盐酸调节 pH 2.5,依次用 5 mL 乙腈和 5 mL 超纯水活化固相萃取小柱;然后加入 20.0 mL 待测水样,待水样加完后,减压抽干小柱,再用 6 mL 乙腈洗脱,收集洗脱液,用氮气吹干;加乙腈定容至 1.0 mL,供 LC/MS 测定。

## 2 结果和讨论

### 2.1 液相色谱条件的建立

UPLC 采用的色谱柱填料粒径为 1.7  $\mu\text{m}$ ,与常规的 5  $\mu\text{m}$   $\text{C}_{18}$  色谱柱相比,能显著提高柱效,大大减少色谱分离所需的时间,并且其所使用的 0.2~0.4 mL/min 流速又恰好能与电喷雾离子化方式所匹配。

在流动相的选择方面,分别采用了等度洗脱(70% 甲醇 0.05% 乙酸)和梯度洗脱两种方式。除了考虑色谱的分离情况,还要考虑是否与质谱条件匹配。实验比较了甲醇 0.05% 乙酸和乙腈 0.05% 乙酸,发现采用等度洗脱方式虽然能够很好的分离甲磺隆和苄嘧磺隆,但其峰型较差,示于图 1;而采用梯度洗脱方式,甲磺隆和苄嘧磺隆的分离度和峰型均较好,故采用梯度洗脱方式进行甲磺隆和苄嘧磺隆的分离,示于图 2。

### 2.2 质谱条件的建立

通过对甲磺隆( $\text{C}_{14}\text{H}_{15}\text{N}_5\text{O}_6\text{S}$ )和苄嘧磺隆( $\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{N}_4\text{O}_7\text{S}$ )的结构分析,相对分子质量分别为 381.4 和 410.4,母离子分子离子峰 $[\text{M} + \text{H}]^+$ 分别为  $m/z$  382.4 和  $m/z$  411.4。采用直接进样方式将质量浓度为 0.5 mg/L 甲磺隆和苄嘧磺隆混合标准溶液注入离子源中,在正离子检测方式下分别进行母离子全扫描,得到甲磺隆和苄嘧磺隆的母离子峰。分别对两者的一级质谱参数(如毛细管电压、锥孔电压、离子源温度、脱溶剂气温度、脱溶剂气流速等)进行优化,使甲磺隆和苄嘧磺隆母离子的离子强度达到最佳,

然后以此母分子离子峰为母离子进行二级质谱扫描,采集全扫描的二级质谱图,得到相应的碎片离子信息,对二级质谱参数(如碰撞电压,碰撞气流速等)进行优化,使特征碎片离子产生的离子对强溶剂气流速等优化,以使甲磺隆和苄嘧磺隆的母离子的离子强度达到最佳,得到的甲磺隆和苄嘧磺隆二级质谱图分别示于图 3、图 4。选择  $m/z$  381.9 >  $m/z$  167.0 作为甲磺隆定性、定量离子, $m/z$  411.0 >  $m/z$  149.1 作为苄嘧磺隆定性、定量离子。

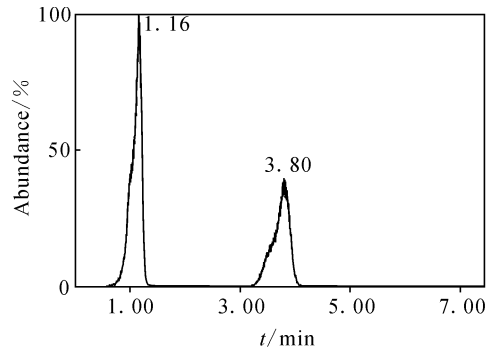


图 1 甲磺隆、苄嘧磺隆等度洗脱色谱图

Fig.1 Chromatography of metsulfuron methyl and bensulfuron methyl with isocratic elution

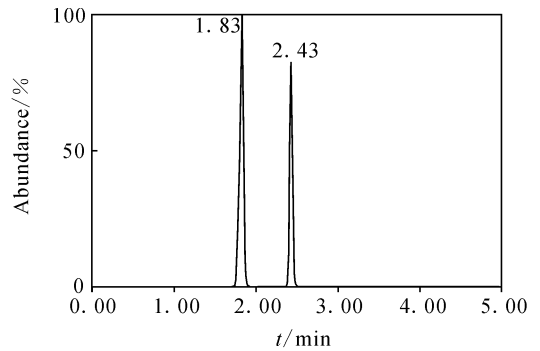


图 2 甲磺隆、苄嘧磺隆梯度洗脱色谱图

Fig.2 Chromatography of metsulfuron methyl and bensulfuron methyl with gradient elution

### 2.3 固相萃取条件的优化

由于在酸性条件下,弱酸性的甲磺隆和苄嘧磺隆以分子状态存在,易与固相萃取柱中的固相材料结合,从而保留在固相萃取柱中,因此过柱之前将样液调至 pH 2.5。

比较乙腈和甲醇的洗脱效果,实验发现,用甲醇作为洗脱液时,其待测组分的回收率较乙腈低,故选用乙腈作为洗脱液。

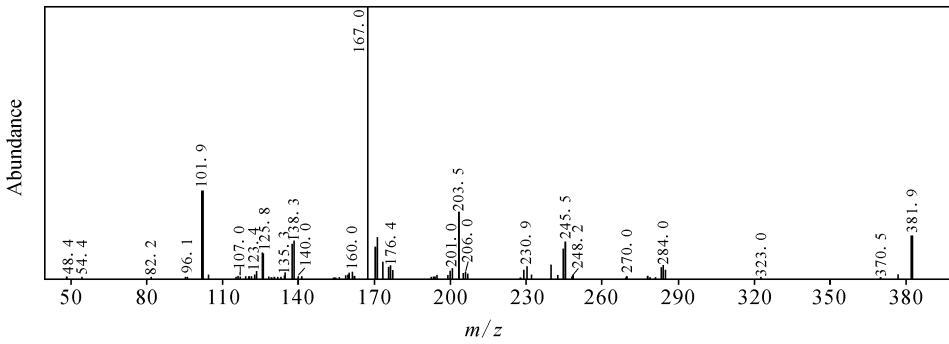


图 3 甲磺隆的 ESF MS/MS 质谱图

Fig. 3 ESF MS/MS mass spectrum of metsulfuron methyl

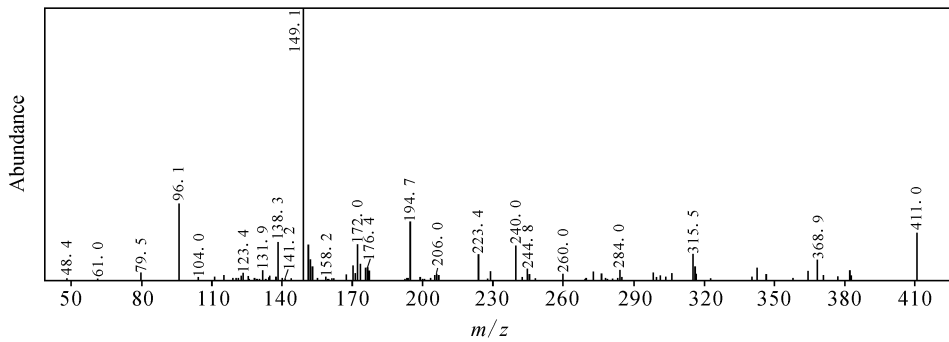


图 4 苄嘧磺隆的 ESF MS/MS 质谱图

Fig. 4 ESF MS/MS mass spectrum of bensulfuron methyl

洗脱液体积的优化: 为了确定乙腈洗脱液的用量, 采用在空白水样中加标, 用 10.0 mL 乙腈按 2.0、3.0、4.0、5.0、6.0、7.0、8.0 mL 分段洗脱并收集, 吹干后定容至 1.0 mL, 进行色谱分析。实验表明, 在洗脱液体积为 6.0 mL 时, 检测不出甲磺隆和苄嘧磺隆, 故固相萃取时, 乙腈的用量为 6.0 mL。

#### 2.4 标准曲线

分别移取 0.2、2.0、10.0、20.0 mL 甲磺隆、苄嘧磺隆混合标准溶液, 用乙腈定容至 100 mL, 配成 1.0、10.0、50.0、100.0、500.0  $\mu\text{g/L}$  含甲磺隆和苄嘧磺隆的混合标准溶液。经 UPLC-MS/MS 测定后, 分别以甲磺隆和苄嘧磺隆为定量离子, 色谱峰面积为纵坐标, 浓度为横坐标, 绘制标准曲线, 得到甲磺隆的回归方程为  $y = 788.73x - 3653$ ,  $r = 0.9997$ , 苄嘧磺隆的回归方程为  $y = 508.64x - 1291.3$ ,  $r = 0.9999$ 。甲磺隆和苄嘧磺隆在 1.0~500.0  $\mu\text{g/L}$  的范围内线性关系良好。

#### 2.5 检出限

取 20.0 mL 水样分析, 最终定容体积为 1.0

mL, 进样量 10  $\mu\text{L}$ , 在空白水样品中添加甲磺隆和苄嘧磺隆标准溶液, 测得稻田水体中甲磺隆和苄嘧磺隆的检出限 ( $S/N = 3$ ) 分别为 0.0025  $\mu\text{g/L}$  和 0.005  $\mu\text{g/L}$ 。

#### 2.6 回收率和精密度

分别准确吸取 0.1、0.2、0.4 mL 甲磺隆、苄嘧磺隆混合标准溶液, 用空白水样定容至 20 mL, 按 2.5 项方法制备供试液, 进行色谱及质谱条件的测定, 计算甲磺隆和苄嘧磺隆的回收率以及测定结果的相对标准偏差, 每组样品平行测定 6 次, 结果列于表 3。由表 3 可知, 在添加水平 2.5~20.0  $\mu\text{g/L}$  时, 其回收率为 87.6%~98.2%, 相对标准偏差为 1.6%~3.5%。空白水样加标的 UPLC-MS/MS 总离子流色谱图, 示于图 5。

#### 2.7 样品测定

应用本方法检测从稻田中采集的 10 批水样, 样品中甲磺隆和苄嘧磺隆的含量为 0.75~10.2  $\mu\text{g/L}$ , 结果列于表 4。

表 3 标准加入空白水样中甲磺隆和  
苄嘧磺隆的回收率和相对标准偏差( $n=6$ )

Table 3 Recovery and RSD of metsulfuron methyl and  
bensulfuron methyl in the samples of standard addition( $n=6$ )

组分	加入量/ ( $\mu\text{g/L}$ )	平均测定 值/( $\mu\text{g/L}$ )	平均回收 率/%	相对标准 偏差 RSD/%
甲磺隆	2.5	2.25	90.0	3.1
	5.0	4.78	95.6	2.9
	10.0	9.82	98.2	1.6
苄嘧磺隆	2.5	2.19	87.6	3.5
	5.0	4.64	92.8	2.4
	10.0	9.63	96.3	2.3

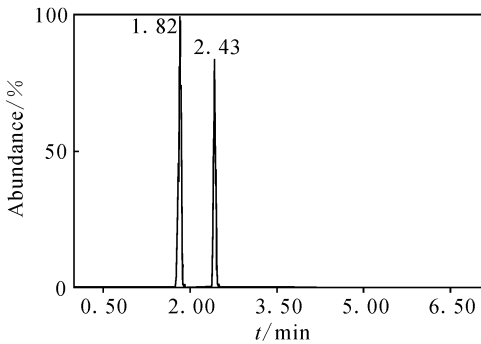


图 5 空白水样加标的 UPLC-MS/MS  
总离子流色谱图

Fig. 5 Total ion current chromatograms of  
a blank sample spiked standard

表 4 不同水样中, 甲磺隆和苄嘧磺隆残留量检测结果

Table 4 Results of metsulfuron methyl  
and bensulfuron methyl contents in  
some selected paddyfield water

名称	残留量/( $\mu\text{g/L}$ )	
	甲磺隆	苄嘧磺隆
样品 1	6.0	7.1
样品 2	4.1	4.8
样品 3	7.5	7.6
样品 4	2.4	2.9
样品 5	6.2	6.4
样品 6	9.7	10.2
样品 7	6.1	7.8
样品 8	5.8	5.6
样品 9	1.0	1.3
样品 10	0.75	0.89

### 3 结论

本方法适用于同时检测稻田水体中甲磺隆和苄嘧磺隆的残留。实验表明, UPLC-MS/MS 对于稻田水体中甲磺隆和苄嘧磺隆的残留分析, 是一种灵敏度高、重现性好的定性、定量方法。在水样只有 20 倍浓缩的情况下, 检测限可达  $0.0025 \mu\text{g/L}$  和  $0.005 \mu\text{g/L}$ , 可以通过加大处理水样的量继续降低检测限。

### 参考文献:

- [1] 邓金保. 磺酰脲类除草剂综述[J]. 世界农药, 2003, 25(3): 24-29.
- [2] 司友斌, 张瑾, 岳永德, 等. 除草剂苄嘧磺隆在环境中的降解转化研究进展[J]. 安徽农业大学学报, 2002, 29(4): 359-362.
- [3] SCHLAEPPI J A, KESSLER A, FORY W. Development of a magnetic particle based automated chemiluminescent immunoassay for triasulfuron [J]. J Agric Food Chem, 1994, 42(9): 1914-1919.
- [4] LEE J K, AHN K C, PARK O S. Development of an immunoassay for the residues of the herbicide bensulfuron methyl [J]. Journal of Agricultural Food Chemistry, 2002, 50(7): 1791-1803.
- [5] YAZYNINA E V, ZHERDEV A V, EREMIN S A. Development of enzyme immunoassays for the herbicide chlorsulfuron [J]. Applied Biochemistry and Microbiology, 2002, 38(1): 9-14.
- [6] 吴岩, 杨长志, 刘永, 等. 气相色谱-质谱法测定大豆中的豆磺隆的残留量[J]. 分析实验室, 2008, 27(3): 80-83.
- [7] 刘海燕, 黄超. 甲磺隆-氯磺隆-噻吩磺隆混剂液相色谱分析[J]. 农药科学与管理, 2005, 26(12): 5-7.
- [8] 何成艳, 黎源倩, 王和兴. 固相萃取-高效液相色谱测定水中 5 种磺酰脲类除草剂[J]. 现代预防医学, 2008, 35(3): 538-540.
- [9] 谢晓梅, 廖敏. 毛细管电泳定量测定稻田土壤中痕量磺酰脲类除草剂残留[J]. 农药学报, 2004, 6(2): 57-61.