

粮谷中 11 种二硝基苯胺类除草剂残留量的气相色谱 - 串联质谱法测定

陈其勇, 葛宝坤, 韩红芳, 王云凤

(天津出入境检验检疫局, 天津 300461)

摘要: 建立了粮谷中 11 种二硝基苯胺类除草剂残留量的气相色谱 - 串联质谱 (GC - MS/MS) 测定方法, 样品经乙腈提取、QuEChERS 法净化, 采用 GC - MS/MS 在多反应监测模式下进行快速分析, 外标法定量。在优化实验条件下, 11 种二硝基苯胺类除草剂的线性范围均为 1.0 ~ 20.0 $\mu\text{g/L}$, 相关系数大于 0.996, 方法定量下限为 5 $\mu\text{g/kg}$; 在加标水平为 5、10、20 $\mu\text{g/kg}$ 时, 大米、大豆、小麦样品中 11 种二硝基苯胺类除草剂的平均加标回收率为 65% ~ 110%, 相对标准偏差 ($n=7$) 为 2.6% ~ 10.2%。

关键词: 二硝基苯胺类除草剂; 气相色谱 - 串联质谱; 粮谷; 测定

中图分类号: O657.63; TQ457 文献标识码: A 文章编号: 1004 - 4957(2011)05 - 0573 - 04

doi: 10.3969/j.issn.1004 - 4957.2011.05.020

Determination of 11 Dinitroaniline Herbicide Residues in Grains by Gas Chromatography - Tandem Mass Spectrometry

CHEN Qi-yong, GE Bao-kun, HAN Hong-fang, WANG Yun-feng

(Tianjin Entry - Exit Inspection and Quarantine Bureau, Tianjin 300461, China)

Abstract: A gas chromatography - tandem mass spectrometric (GC - MS/MS) method was established for the determination of 11 dinitroaniline herbicide in grains products. The samples were extracted with acetonitrile, and cleaned up by the QuEChERS method. A rapid analysis was carried out by GC - MS/MS under multiple reaction monitoring (MRM) mode. The external standard was used for quantitative analysis. Under the optimal conditions, the calibration curves for the 11 dinitroaniline herbicides were linear in the range of 1.0 - 20.0 $\mu\text{g/L}$ with correlation coefficients more than 0.996. The quantitation limit of the method was 5 $\mu\text{g/kg}$. The mean recoveries for rice, soybean and wheat samples at three spiked concentrations levels of 5, 10, 20 $\mu\text{g/kg}$ were in the range of 65% - 110% with relative standard deviations (RSDs, $n=7$) of 2.6% - 10.2%.

Key words: dinitroaniline herbicide; gas chromatography - tandem mass spectrometry (GC - MS/MS); grains; determination

二硝基苯胺类除草剂 (Dinitroaniline herbicide) 是一种重要的选择性芽前除草剂, 广泛用于大豆、大麦、蔬菜及水果等作物, 其结构通式为 2, 6-二硝基苯胺 (见图 1) [1]。由于该类除草剂杀草谱广、除草效果稳定, 在世界范围内得到了广泛应用。在美国近几年的大豆除草剂种类调查中, 氟乐灵和二甲戊乐灵的用量仅次于草甘膦 [2]。

由于土壤对二硝基苯胺类除草剂具有强吸附作用, 其残留会对后茬作物产生药害。在人类淋巴细胞的彗星实验中发现, 氟乐灵对哺乳动物细胞具有基因毒性 [3], 欧洲已禁用或限用氟乐灵及二甲戊乐灵, 而美国、日本等国家也对该类除草剂制订了严格的限制指标 [4]。目前, 该类除草剂残留的检测方法有 GC/

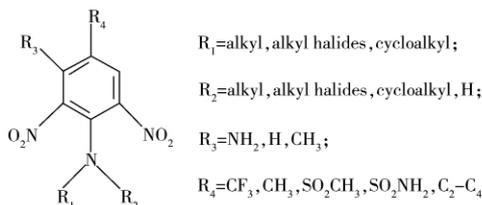


图 1 二硝基苯胺类除草剂的结构通式
Fig. 1 General formula of dinitroaniline herbicides

收稿日期: 2010 - 11 - 05; 修回日期: 2011 - 01 - 12

基金项目: 天津出入境检验检疫局资助项目 (TK017 - 2009)

通讯作者: 陈其勇, Tel: 022 - 66273158, E - mail: chenqy@tjciq.gov.cn

ECD、GC-MS^[5-9], 检测对象以土壤、水、果蔬等样品为主, 尚无粮谷中二硝基苯胺类除草剂多残留的气相色谱-串联质谱法检测报道。本研究采用正己烷饱和和乙腈提取目标化合物, 并采用 QuEChERS 法净化样品基质, 以 GC-MS/MS 技术对粮谷中二硝基苯胺类除草剂残留量进行测定。方法具有较高的灵敏度和准确性, 能满足粮谷类复杂基体的定性及定量检测要求。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

TSQ Quantum XLS 串联四极杆气相色谱质谱联用仪(美国 Thermo 公司), 配电子轰击电离(EI)源; 组织匀浆机(德国 IKA 公司), 氮吹仪(美国 Organomation Associates 公司), 离心机(日本 Hitachi 公司), 旋转蒸发器(瑞士 Buchi 公司), 涡旋混匀器(德国 IKA 公司)。

乙腈、正己烷、乙酸(色谱纯, 美国 Fisher 公司); 乙二胺-N-丙基硅烷填料、C₁₈填料(德国 CNW 公司); 无水硫酸镁、氯化钠(分析纯, 天津市化学试剂三厂); 二硝基苯胺类除草剂标准品(美国 Sigma 公司), 用正己烷稀释成 1 g/L 的储备液, 临用时根据需要用正己烷稀释成适当质量浓度的混合标准储备液及工作液。

1.2 实验方法

1.2.1 样品提取 准确称取 5.0 g 试样于 50 mL 带螺旋盖的聚丙烯离心管中, 加入 10 mL 水, 涡旋混合 30 s, 放置 10 min。加入 5 g 无水硫酸镁、2 g 氯化钠、20 mL 正己烷饱和的 0.5% 乙酸乙腈溶液于离心管中, 振摇使试样分散, 超声 30 min, 静置 10 min。将上清液转移至 150 mL 烧瓶中, 再次加入 10 mL 正己烷饱和的 0.5% 乙酸乙腈溶液于离心管中, 重复提取 1 次, 40 °C 以下浓缩除去乙腈; 用 2 mL 乙腈溶解残渣, 待净化。

1.2.2 样品净化 将上述样品转移至装有 300 mg 无水硫酸镁、200 mg PSA 填料和 100 mg C₁₈ 填料的小试管中; 充分涡旋 1 min, 取 1 mL 溶液至 15 mL 离心管中, 氮吹浓缩至干, 用 1 mL 正己烷溶解, 过 0.22 μm 滤膜, 供 GC-MS/MS 测定。

1.2.3 气相色谱-质谱条件 色谱柱: TR-5MS 色谱柱, 15 m×0.25 mm(i. d.)×0.25 μm; 柱温: 初始温度 50 °C, 保持 1 min, 以 25 °C/min 升至 150 °C, 再以 10 °C/min 升至 220 °C, 最后以 35 °C/min 升至 290 °C, 保持 5 min; 进样口温度: 200 °C; 色谱-质谱接口温度: 280 °C; 载气: 氦气; 进样方式: 不分流进样, 1 min 后开阀; 离子源: EI 源; 离子源温度: 250 °C; 电子能量: 70 eV; 溶剂延迟时间: 4 min; 扫描方式: 多反应离子监测模式(MRM); 母离子、子离子、碰撞能量及保留时间见表 1。

表 1 11 种二硝基苯胺类除草剂的选择离子、碰撞能量、保留时间、线性方程及相关系数

Table 1 Selected ions, collision energies, retention times, regression equations and correlation coefficients(*r*) of 11 dinitroaniline herbicides

Herbicide	Precursor ion <i>m/z</i>	Product ion <i>m/z</i>	Collision energy <i>U/V</i>	Retention time <i>t/min</i>	Regression equation	<i>r</i>
Ethalfuralin(乙丁烯氟灵)	276.1, 316.1	202.1*, 276.1	10, 10	6.79	$y = 3\ 143\ 410x + 608\ 497$	0.996 6
Trifluralin(氟乐灵)	264.1, 306.1	160.1, 160.1*	15, 15	6.92	$y = 11\ 933\ 400x - 82\ 015$	0.998 2
Benfluralin(乙丁氟灵)	292.1, 292.1	160.1*, 264.1	21, 10	6.97	$y = 24\ 844\ 300x - 152\ 916$	0.998 6
Profluralin(环丙氟灵)	318.1, 330.1	199.1*, 248.1	15, 15	7.78	$y = 1\ 059\ 760x - 1\ 552.07$	0.999 6
Fluchloralin(氯乙氟灵)	264.0, 306.1	160.0, 160.0*	15, 20	8.00	$y = 5\ 270\ 090x + 15\ 268$	0.999 4
Dinitramin(氨基乙氟灵)	305.1, 307.1	244.1*, 216.1	15, 15	8.06	$y = 209\ 543x - 874$	0.998 7
Prodiamine(氨基丙氟灵)	321.0, 305.1	279.0*, 288.0	8, 5	9.23	$y = 2\ 314\ 600x - 3\ 999$	0.999 6
Butralin(双丁乐灵)	266.1, 266.1	190.1*, 220.1	15, 15	9.79	$y = 489\ 392x + 1\ 201$	0.996 1
Isopropalin(异丙乐灵)	280.1, 264.1	238.0*, 222.0	10, 10	9.94	$y = 4\ 508\ 370x - 5\ 224$	0.999 1
Pendimethalin(二甲戊乐灵)	252.1, 252.1	162.1*, 191.1	12, 12	10.05	$y = 2\ 192\ 120x + 8\ 560$	0.999 0
Nitralin(磺乐灵)	274.1, 316.0	216.1, 274.0*	15, 5	12.87	$y = 2\ 475\ 830x + 1\ 013$	0.999 6

* quantitative ion; *y*. peak area; *x*. concentration of dinitroaniline herbicides, μg/L

2 结果与讨论

2.1 提取条件的选择

二硝基苯胺类除草剂在粮谷类样品中能与脂类物质结合, 不易分离, 提取溶剂需渗入组织内部才能得到良好的提取效果。正己烷饱和和乙腈、丙酮和乙酸乙酯均能对此类农药充分提取, 但丙酮和乙酸乙酯提取的共萃物中油脂含量较高, 不利于净化, 故本方法采用正己烷饱和的乙腈作为提取溶剂, 而添加0.5%乙酸可起到类分析保护剂作用。常用的提取方法主要有超声提取、振荡提取与均质提取等, 均质提取主要用于果蔬类样品, 振荡提取与超声提取对此类除草剂均具有良好的提取效果, 本方法最终采用超声提取。

2.2 净化条件的选择^[4]

目前粮谷中二硝基苯胺类除草剂的净化方法主要有凝胶色谱净化法、固相萃取柱净化法及 QuEChERS 法等。凝胶色谱法对去除色素、油脂等大分子杂质有良好的效果, 但有机溶剂用量较多, 操作时间较长; 而 GB/T 19649-2006^[10] 采用的固相萃取净化法则需将3个固相萃取柱串接。经过对比研究, 本文最终采用 QuEChERS 法作为粮谷类样品基质的净化方法。QuEChERS 法中, 无水硫酸镁吸水的同时也放热, 使萃取液的温度达45℃左右, 促进了农药的萃取; 乙二胺-N-丙基硅烷(PSA)吸附剂能够清除许多极性基质成分如样品共萃取物中的脂肪酸、亲脂性色素和糖类等, 且对农药残留物无吸附作用。

2.3 质谱条件的优化

使用二硝基苯胺类除草剂的正己烷标准溶液优化质谱条件。首先对化合物的标准溶液进行全扫描, 选出合适的碎片离子作为母离子, 然后对每个母离子通过设置5、10、15、20 V 4个通道进行不同能量碰撞, 根据其子离子扫描质谱图, 确定各化合物的母离子、子离子以及碰撞能量。优化的质谱条件见“1.2.3”。

2.4 方法的线性关系与定量下限

以正己烷为溶剂配制11种二硝基苯胺类除草剂的混合标准溶液, 质量浓度分别为1.0、2.5、5.0、10.0、20.0 μg/L, 按“1.2.3”条件进行 GC-MS/MS 测定, 并绘制标准曲线。其线性回归方程及相关系数见表1。11种二硝基苯胺类除草剂的典型总离子流色谱图见图2。

根据信号10倍于噪音时的样品添加浓度, 确定11种二硝基苯胺类除草剂的定量下限均为5 μg/kg, 方法的灵敏度符合残留分析方法指令和基本规定的要求^[11-12]。

2.5 方法的回收率与相对标准偏差

采用加标法在大米、大豆与小麦3种基质中分别添加5、10、20 μg/kg 的二硝基苯胺类除草剂, 每个加标水平平行测定7次。实验结果表明, 方法的平均加标回收率为65%~110%, 相对标准偏差为2.6%~10.2%。

3 结论

通过对样品进行提取、净化, 建立了粮谷类样品中二硝基苯胺类除草剂残留量的气相色谱-串联质谱分析方法。该法灵敏、可靠、准确、快速, 其定量下限为5 μg/kg, 完全满足日本肯定列表、欧盟等对二硝基苯胺类除草剂的残留分析要求。

参考文献:

[1] 霍江莲, 李军, 葛毅强, 储晓刚. 大豆中二硝基苯胺类除草剂多残留的气相色谱法定量检测及质谱确证[J]. 分

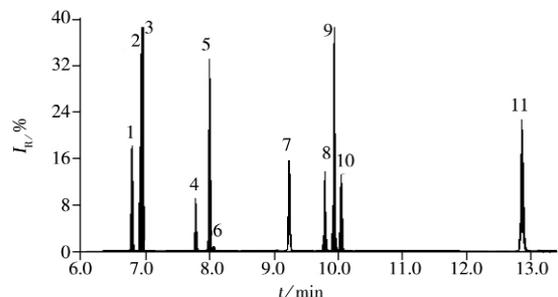


图2 二硝基苯胺类除草剂混合标准溶液的总离子流色谱图

Fig. 2 GC-MS/MS total ion chromatogram of dinitroaniline herbicide standard

1. ethalfluralin; 2. trifluralin; 3. benfluralin; 4. profluralin;
5. fluchloralin; 6. dinitramin; 7. prodiamine; 8. butralin;
9. isopropalin; 10. pendimethalin; 11. nitralin

- 析化学, 2006, 34(9): S63 - S67.
- [2] 霍江莲, 李军, 葛毅强, 祁彦, 储晓刚. 二硝基苯胺类除草剂残留检测技术的研究进展[J]. 农药, 2004, 45(4): 222 - 225.
- [3] RIBAS A G, FRENZILLI H G, BARALEB R, MARCOS R. Herbicide-included DNA damage in human lymphocytes evaluated by the single-cell gel electrophoresis(SCGE) assay[J]. *Mutat Res*, 1995, 344(1/2): 41 - 54.
- [4] 储晓刚. 大豆中除草剂残留定性定量检测技术研究[D]. 无锡: 江南大学, 2007: 33 - 54.
- [5] FILLION J, HINDLE R, LACROIX M, SELWYN J. Multiresidue determination of pesticide in fruit and vegetables by gas chromatography - mass-selective detection and liquid chromatography with fluorescence detection[J]. *J AOAC Int*, 1995, 78(5): 1252 - 1266.
- [6] CHU X G, HU X Z, YAO H Y. Determination of 266 pesticide residues in apple juice by matrix solid-phase dispersion and gas chromatography - mass selective detection[J]. *J Chromatogr: A*, 2005, 1063(1/2): 201 - 210.
- [7] 朱鲁生, 王军, 谢慧, 刘伟, 王秀国. 二甲戊乐灵在土壤中的残留分析[J]. 农药, 2004, 43(11): 512 - 514.
- [8] 周培, 陆贻通, 伊雄海, 洪静波. 花生中氟乐灵农药残留的优化气相色谱测定法[J]. 上海交通大学学报: 农业科学版, 2003, 21(3): 205 - 207.
- [9] 韩雅莉, 苏雪. 二甲戊乐灵的 GC - MS 检验[J]. 分析测试学报, 2004, 23(S1): 209 - 210.
- [10] GB/T 19649 - 2006. 粮谷中 475 种农药及相关标准品残留量的测定 气相色谱 - 质谱法[S].
- [11] The Council of the European Union. Council Directive 2002/657/EC[S]. Luxembourg: Official Journal of European Union, 2002.
- [12] SN/T0001 - 1995. 出口商品中农药、兽药残留量及生物毒素检验方法标准编写的基本规定[S].

(上接第 572 页)

- [3] 张天彬, 万洪富, 杨国义, 高原雪, 罗薇. 珠江三角洲典型城市农业土壤及蔬菜中的多环芳烃分布[J]. 环境科学学报, 2008, 28(11): 2375 - 2384.
- [4] 刘福岭, 戴行钧. 食品物理与化学分析方法[M]. 北京: 轻工业出版社, 1987.
- [5] GB/T5009. 27 - 2003. 食品中苯并[α]芘的测定[S].
- [6] MEUDEEC A, DUSSAUZE J, JOURDIN M, DESLANDES E N. Gas chromatographic - mass spectrometric method for polycyclic aromatic hydrocarbon analysis in plant biota[J]. *J Chromatogr: A*, 2006, 1108(3): 240 - 247.
- [7] 王洪涛, 张丽华. 辽宁省污灌区土壤中多环芳烃的测定[J]. 环境保护与循环经济, 2009, 29(5): 30 - 31.
- [8] KIPOPOULOU A M, MANOLI E, SAMARA C. Bioconcentration of polycyclic aromatic hydrocarbons in vegetables grown in an industrial area[J]. *Environ Pollut*, 1999, 106(3): 369 - 380.
- [9] 佟玲, 周瑞泽, 吴淑琪, 张玲金. 加速溶剂提取凝胶渗透色谱净化气相色谱质谱快速测定玉米中多环芳烃[J]. 分析化学, 2009, 37(3): 357 - 362.
- [10] VEYRAND B, BROSSEAUD A, SARCHER L, VARLET V, MONTEAU F, MARCHAND P, ANDRE F, LE BIZEC B. Innovative method for determination of 19 polycyclic aromatic hydrocarbons in food and oil samples using gas chromatography coupled to tandem mass spectrometry based on an isotope dilution approach[J]. *J Chromatogr: A*, 2007, 1149(4): 333 - 344.
- [11] 赵祥梅, 董英, 王和生. QuEChERS 法在农产品农药残留物检测中的应用研究进展[J]. 中国卫生检验杂志, 2008, 18(5): 952 - 954.
- [12] 董静, 宫小明, 张立. QuEChERS - 高效液相色谱法同时检测动物组织中的克球酚、地克珠利和磺胺类药物残留量[J]. 中国卫生检验杂志, 2008, 18(1): 26 - 28.
- [13] LEHOTAY S J, MAŠTOVSKÁ K, LIGHFIELD A R. Use of buffering and other means to improve results of problematic pesticides in a fast and easy method for residue analysis of fruits and vegetables[J]. *J AOAC Int*, 2005, 88(2): 615 - 629.
- [14] 杨坪, 龚必辅, 熊英, 彭蓉. 大气颗粒物中多环芳烃的索氏提取研究[J]. 中国环境监测, 1999, 15(6): 16 - 20.
- [15] 王建华, 姜海燕, 王惠, 王修林. 气相色谱 - 质谱法测定蔬菜中的 16 种多环芳烃[J]. 中国卫生检验杂志, 2006, 16(2): 197 - 199.
- [16] 袁雪婵. QuEChERS 法及其在食品农药多残留分析中的应用[J]. 中国食品添加剂, 2009, 20(2): 144 - 148.
- [17] 毕鸿亮, 张浩原, 孙翠香, 饶勇, 苏流坤. 蔬菜中多环芳烃的 GC - MS 分析[J]. 分析测试学报, 2007, 26(4): 530 - 532.
- [18] 攀虎, 盛良全. 卷烟主流烟气中多环芳烃的提取、纯化及检测方法综述[J]. 烟草科技, 2003, 36(4): 25 - 28.