

doi :10.3969/j.issn.1008-6145.2016.02.007

# 液相色谱 - 串联质谱法测定蔬菜中 6 种极性农药残留量 \*

郭平, 万建春, 祝建新, 占春瑞, 左海根  
(江西出入境检验检疫局检验检疫综合技术中心, 南昌 330038)

**摘要** 建立了百草枯、敌草快、矮壮素、缩节胺、单甲脒、灭蝇胺 6 种极性农药的液相色谱 - 串联质谱测定方法。采用 SCX 和 C<sub>18</sub> 复合填料(质量比为 1 : 20)的 Shiseido CAPCELL PAK CR 色谱柱分离, 用超高压液相色谱 - 串联质谱仪测定。利用响应面法优化得到样品的前处理条件, 蔬菜样品用甲酸 - 乙腈溶液均质提取, 三氯甲烷液 - 液萃取净化, 在定量限的 1, 2, 10 倍浓度水平, 回收率在 61.7%~116.8% 之间, 测定结果的相对标准偏差不大于 13.6%( $n=6$ )。该法适用于蔬菜中百草枯、敌草快、矮壮素、缩节胺、单甲脒、灭蝇胺残留量的测定。

**关键词** 百草枯; 敌草快; 矮壮素; 缩节胺; 单甲脒; 灭蝇胺; 蔬菜; 残留量; 液相色谱 - 串联质谱法  
**中图分类号** :O657.63   **文献标识码** :A   **文章编号** :1008-6145(2016)02-0023-04

## Determination of Six Kinds of Polar Pesticide Residue in Vegetables by Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry

Guo Ping, Wan Jianchun, Zhu Jianxin, Zhan Chunrui, Zuo Haigen  
(Comprehensive Technology Center of Jiangxi Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Nanchang 330038, China)

**Abstract** A HPLC-MS / MS method was established for determination of polar pesticides residues of paraquat, diquat, chlormequat, mepiquat, semiamitraz, cyromazine. The chromatographic separation was achieved by ultra high pressure liquid chromatography-tandem mass spectrometry, using a CAPCELL PAK CR column with SCX and C<sub>18</sub> mixing proportion of 1 : 20. The sample pretreatment conditions was optimized by response surface method, vegetable samples were extracted with formic acid-acetonitrile solution, and purified by liquid-liquid extraction with chloroform. The recoveries were 61.7%-116.8% with the relative standard deviation not more than 13.6%( $n=6$ ) in the level of 1, 2, 10 times concentration of the limit quantification (LOQ). The method is suitable for the determination of paraquat, diquat, chlormequat, mepiquat, semiamitraz, cyromazine residues in vegetables.

**Keywords** paraquat; diquat; chlormequat; mepiquat; semiamitraz; cyromazine; vegetable; residue; LC-MS / MS

百草枯(paraquat, PQ)、敌草快(diquat, DQ)、矮壮素(chlormequat, CQ)、缩节胺(mepiquat, MQ)都是常见的季铵盐类农药, 它们易溶于水、挥发性低、在酸性和中性条件下化学性质稳定<sup>[1]</sup>; 单甲脒(semiamitraz, ST)和灭蝇胺(cyromazine, CZ)是强碱性极性阳离子有机化合物, 易溶于水等极性溶剂。

百草枯是用量仅次于草甘膦的全球第二大除草剂<sup>[2]</sup>。百草枯毒性很强, 目前临床缺少有效的治疗手段, 百草枯中毒致死率非常高<sup>[3-4]</sup>。我国国家标准 GB 2763-2014 中规定了多种蔬菜品种中百草枯限量要求, 目前蔬菜中百草枯残留量的检测标准方法是紫外分光光度法<sup>[5]</sup>, 该法专属性不强, 易受基质干扰, 而且操作步骤复杂。液质联用技术具有高灵敏度和专属性强等特点, 在复杂基质样品农药残

留分析中具有独特的优势。目前有较多研究者采用液质联用技术测定食品中农药残留<sup>[6-11]</sup>, 而对百草枯等强极性农药更多的是采用离子对试剂或用亲水色谱柱进行色谱分离。离子对试剂的使用会影响质谱的灵敏度<sup>[12]</sup>, 而亲水色谱柱则需要高浓度的缓冲盐, 这同样会影响质谱的灵敏度。笔者采用 SCX 和 C<sub>18</sub> 复合固定相的反相色谱柱分离后进行质谱分析, 建立了蔬菜中极性农药残留量的快速测定方法。

### 1 实验部分

#### 1.1 主要仪器与试剂

液质联用仪: TSQ-Quantiva 型, 配 ESI 离子源,

\* 江西省科技厅科研项目 (20141BBG70096)

联系人: 万建春; E-mail: wojiaoandy@aliyun.com

收稿日期: 2015-12-04

美国塞默飞世尔科技有限公司;

高速组织匀浆机:IKA-T25型,德国IKA公司;

超纯水机:Milli-Q型,美国Millipore公司;

涡旋混匀器:Vortex-Genie2型,美国Scientific Industries公司;

常速离心机:TDL-5-A型,上海安亭公司;

高速离心机:5430R型,德国Eppendorf公司;

百草枯、敌草快、矮壮素、缩节胺、单甲脒、灭蝇胺标准物质:德国Dr. Ehrenstorfer公司;

乙腈:色谱纯,德国Merck公司;

甲酸:色谱纯,美国Sigma公司;

三氯甲烷、乙酸铵:色谱纯,上海安谱公司;

实验用水为超纯水(Milli-Q超纯水机制得)。

## 1.2 溶液的配制

百草枯、敌草快、矮壮素、缩节胺、单甲脒、灭蝇胺标准溶液:分别准确称取10 mg标准品于10 mL容量瓶中,用水溶解并定容,制得1.0 mg/mL标准储备液,于-18℃下储藏。标准中间液用水稀释储备液至适当浓度备用。

甲酸-乙腈提取液:分别量取50 mL甲酸,加入250 mL乙腈,加水溶解并定容至1000 mL,现配现用。

## 1.3 仪器工作条件

### 1.3.1 色谱条件

色谱柱:Shiseido CAPCELL PAK CR柱(150 mm×2.1 mm, 3.5 μm);柱温:30℃;流动相:A为5 mmol/L乙酸铵溶液(含0.1%甲酸),B为99%乙腈溶液(含5 mmol/L乙酸铵);流动相流量:0.3 mL/min;进样体积:5 μL;梯度洗脱程序见表1。

表1 梯度洗脱程序

时间/min	流动相 A / %	流动相 B / %
0.00	99	1
3.00	100	0
10.00	70	30
12.00	30	70
16.00	10	90
16.01	99	1
20.00	99	1

### 1.3.2 质谱条件

正模式扫描;选择反应监测(SRM);毛细管电压:3500 V;雾化气压力:276 kPa(40 psi);鞘气压力:103 kPa(15 psi);反吹气压力:138 kPa(20 psi);离子传输管温度:350℃;雾化气温度:400℃。6种农药的其它质谱参数见表2。

表2 6种农药的质谱参数

化合物	母离子	子离子	碰撞能量/eV	透镜电压/V
缩节胺	114.1	58.198 <sup>*</sup>	26	49
		98.198	27	
矮壮素	122.05	58.186 <sup>*</sup>	28	48
		63.122	23	
单甲脒	163.05	107.15 <sup>*</sup>	27	49
		122.175	18	
灭蝇胺	167.15	68.125 <sup>*</sup>	35	51
		85.125	21	
百草枯	171.0	77.1 <sup>*</sup>	38	72
		155.125	32	
敌草快	183.025	130.14 <sup>*</sup>	36	86
		157.138	25	

注:\*为子离子与母离子构成定量离子对。

## 1.4 样品前处理

称取试样10.0 g至50 mL聚丙烯离心管内,加入10 mL甲酸-乙腈提取液,高速匀浆提取1 min,加入10 mL三氯甲烷,以4500 r/min离心5 min,上层清液全部转移至25 mL比色管中,残渣中再加入10 mL甲酸-乙腈提取液,涡旋提取30 s后,以4500 r/min离心5 min,合并上层清液至25 mL比色管中,用甲酸-乙腈提取液定容至标线,混合均匀,取1 mL甲酸-乙腈提取液至1.5 mL离心管中,以15000 r/min离心5 min,上层清液过0.22 μm滤膜,供液相色谱-串联质谱仪测定。

## 2 结果与讨论

### 2.1 质谱条件的优化

百草枯、敌草快、矮壮素、缩节胺都是季铵盐类化合物,属强极性化合物,而单甲脒、灭蝇胺结构中也含有氨基结构,在质谱离子化时,形成正离子。在质谱优化时,由针泵注入1.0 μg/mL的标准溶液,为提高方法的优化效果,设定0.3 mL/min的流量,等比例注入流动相A和流动相B,调节质谱源参数,在一级母离子扫描方式下使化合物的母离子响应值达到最高。在子离子扫描方式下,设置碰撞气为0.2 Pa,通过调节不同碰撞能量,得到较为理想的碎片离子信息,再利用仪器的自动优化功能,优化离子对最佳碰撞能量和透镜电压。

### 2.2 色谱条件的优化

季铵盐类化合物分子极性较强,在反相色谱柱中难有保留,通常加入七氟丁酸、庚烷磺酸钠等离子对试剂,以改善其在反相色谱柱上的色谱行为,但离子对试剂会造成质谱灵敏度降低。选择CAPCELL PAK CR色谱柱,其固定相由SCX和反相C<sub>18</sub>填料组成,为避免季铵盐类化合物的死吸附,选择SCX

和  $C_{18}$  填料为 1:20 的 CR 柱。乙酸铵缓冲溶液适合于质谱分析, 铵盐也可洗脱阳离子化合物, 实验采用含 5 mmol/L 乙酸铵溶液的流动相, 并优化了梯度洗脱条件。实验发现流动相含有一定比例的有机相, 可改善矮壮素的色谱峰形, 而含有乙酸铵, 可保证其它化合物充分洗脱。实验用空白蔬菜添加 6 种农药, 按 1.4 步骤操作, 得到空白蔬菜加标试样溶液, 加标试样溶液在 1.3 仪器工作条件下测定, 色谱图见图 1。由图 1 可知 6 种农药分离较理想, 色谱峰形非常尖锐, 目标物出峰位置没有干扰峰。

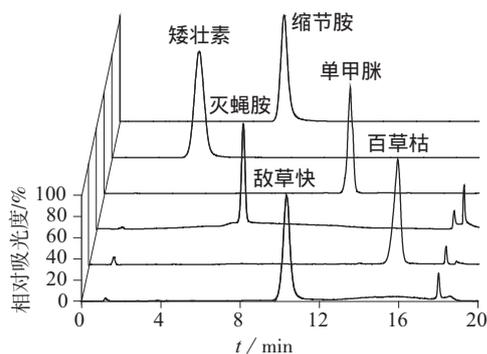


图 1 空白蔬菜添加 6 种农药混合标准溶液的色谱图

### 2.3 样品前处理条件的优化

百草枯、敌草快、矮壮素、缩节胺、单甲脒、灭蝇胺都是极性化合物, 呈碱性, 易溶于水, 目前多采用酸性提取液提取, 因蔬菜含色素较多, 故采用甲酸溶液均质提取, 加入乙腈沉淀纤维, 用三氯甲烷除去色素。6 种农药的碱性强弱和极性差异有所不同, 甲酸溶液的浓度和乙腈的加入量可能影响各目标物的提取效率。以各化合物回收率为响应值, 对甲酸溶液的浓度和乙腈-水比例进行 2 因素 5 水平响应面中心组合试验, 发现甲酸溶液的浓度和乙腈用量对提取效率均有影响, 矮壮素随甲酸溶液浓度的升高回收率升高明显, 单甲脒、灭蝇胺、缩节胺随着乙腈用量的增加回收率下降明显, 可能是这些化合物极性相对偏弱, 有部分溶解在有机相中所致。百草枯和敌草快回收率偏低, 乙腈用量和甲酸溶液浓度的大小对其回收率影响不明显, 但不含甲酸的提取液相比含甲酸的提取液回收率明显偏低, 因此最终确定采用含 5% 甲酸-乙腈水溶液(体积比为 25:75)为提取溶液。

### 2.4 线性方程和检出限

用阴性蔬菜样品进行加标试验, 以待测物的信噪比( $S/N$ )为 10 确定方法的定量限。质谱法测定时, 基质效应难以避免, 而百草枯和敌草快的绝对回

收率偏低, 本方法确定采用基质添加匹配标准工作曲线进行定量。6 种农药的线性范围、线性方程、相关系数、检出限见表 3。

表 3 各化合物在蔬菜样品中的检出限、定量限、线性方程<sup>1)</sup>

化合物	线性范围/ (ng · mL <sup>-1</sup> )	线性方程	r <sup>2</sup>	检出限/ (ng · mL <sup>-1</sup> )
缩节胺	10.0~400	$Y=7.787 \times 10^4 X - 3.72 \times 10^5$	0.999 7	2
矮壮素	10.0~400	$Y=2.451 \times 10^4 X + 1.393 \times 10^4$	0.998 7	2
单甲脒	10.0~400	$Y=1.35 \times 10^5 X + 2.485 \times 10^5$	0.999 5	2
灭蝇胺	10.0~400	$Y=2.349 \times 10^4 X + 6.247 \times 10^5$	0.999 5	2
百草枯	25.0~1 000	$Y=2.72 \times 10^3 X - 5.197 \times 10^4$	0.991 0	5
敌草快	25.0~1 000	$Y=1.275 \times 10^4 X - 2.126 \times 10^4$	0.999 6	5

注: Y 为色谱峰面积。

### 2.5 加标回收试验

采用阴性蔬菜样品, 分别在 1, 2, 10 倍定量限水平进行加标回收试验, 结果见表 4。由表 4 可知 6 种农药加标回收率在 61.7%~116.8% 之间, 测定结果的相对标准偏差不大于 13.6%, 精密度和准确度满足分析要求。

表 4 蔬菜中 6 种农药添加回收试验结果

化合物	添加水平/ ( $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ )	回收率/%	RSD/ %
缩节胺	5	84.9, 85.4, 82.6, 89.6, 87.2, 92.5	4.07
	10	92.1, 96.5, 92.2, 98.5, 94.0, 99.6	3.37
	50	105.2, 112.0, 115.3, 112.2, 112.1, 116.8	3.56
矮壮素	5	72.6, 84.3, 88.3, 92.5, 80.5, 84.9	8.16
	10	83.9, 82.5, 85.4, 80.8, 97.0, 94.3	7.65
	50	92.3, 95.8, 90.4, 97.6, 87.6, 90.0	4.10
单甲脒	5	66.7, 62.6, 65.3, 62.2, 73.9, 66.7	7.02
	10	81.5, 74.2, 68.6, 69.2, 82.9, 81.5	8.08
	50	98.5, 92.2, 95.9, 100.0, 91.5, 98.5	4.29
灭蝇胺	5	76.4, 72.5, 82.2, 77.8, 74.4, 89.7	7.95
	10	74.1, 86.1, 79.4, 84.4, 101.8, 95.2	11.72
	50	104.6, 114.5, 114.7, 113.4, 102.4, 111.1	4.83
百草枯	25	61.8, 80.1, 61.7, 80.9, 82.6, 81.9	13.60
	50	83.9, 82.5, 85.4, 80.8, 97.0, 76.8	8.10
	250	79.5, 93.3, 76.6, 89.6, 77.3, 81.7	8.27
敌草快	25	70.1, 84.1, 75.2, 75.4, 89.1, 75.6	8.91
	50	88.8, 78.5, 84.5, 83.5, 91.2, 74.6	7.43
	250	90.4, 85.6, 91.2, 89.8, 92.3, 87.2	2.83

### 3 结语

建立蔬菜中百草枯、敌草快、矮壮素、缩节胺、单甲脒、灭蝇胺残留量的测定方法, 使用阳离子交换和反相填料的色谱柱进行分离, 对季铵盐类农药有较理想的保留作用。该方法采用甲酸-乙腈水溶液提取, 以三氯甲烷除去色素, 对季铵盐类农药提取效率高, 灵敏度高, 稳定性好, 操作简便。研究过程中发现, 百草枯和敌草快在蔬菜样品中绝对回收率偏低, 有研究表明百草枯在土壤中极易被钝化<sup>[13]</sup>, 这或许是百草枯和敌草快受到样品中金属离子的影响, 而导致绝对回收率偏低的原因, 这一现象还有待

## 进一步研究。

## 参考文献

- [1] 张庆庆,王燕燕,孟品佳.季铵盐类农药残留检测前处理研究[J].湖北大学学报:自然科学版,2014,35(2):132-137.
- [2] 陈珊珊,邓晓,刘景坤,等.百草枯检测方法的研究进展[J].农药,2014,53(1):4-6,30.
- [3] 杜宝顺,翟德胜,范文燕,等.百草枯半数致死量测定[J].新乡医学院学报,2006,23(2):161-162.
- [4] 张婷,谭家镒,田艳,等.气相色谱法检测全血中百草枯[J].广东公安科技,2007,89(4):21-22.
- [5] SN 0340-1995 出口粮谷、蔬菜中百草枯残留量检验方法紫外分光光度法[S].
- [6] 刘雪,卢蕾,马金凤,等.超高效液相色谱串联质谱法测定银杏叶中氨基甲酸酯类农药残留[J].化学分析计量,2012(3):60-64.
- [7] 蒋宏,胡贞贞,宋伟华.微波辅助萃取-液相色谱-串联质谱法测定植物源产品中的阿维菌素 B1a 残留量[J].化学分析计量,2012,21(2):45-48.
- [8] 李捷,杨方,卢声宇,等.超高效液相色谱-电喷雾串联质谱法测定茶叶中敌草快和百草枯残留[J].分析实验室,2014(5):537-541.
- [9] 郑和辉,卞战强,田向红,等.液相色谱串联质谱法直接进样测定饮用水中的百草枯[J].中国卫生检验杂志,2014,24(18):2602-2603,2608.
- [10] Angela Schaner, Heidi Hickers. Quantitative analysis of paraquat in vegetation by stable isotope dilution and liquid chromatography / electrospray ionization-mass spectrometry [J]. Journal of AOAC International, 2015, 98(2): 512-516.
- [11] Tingting Zou, Pingli He, Jingjing Cao, et al. Determination of paraquat in vegetables using HPLC-MS-MS [J]. Journal of Chromatographic Science, 2015, 53(2): 204-209.
- [12] 万建春,郭平,王文君,等.液相色谱-串联质谱法测定鳊鱼中链霉素和双氢链霉素残留量[J].分析实验室,2015(2):168-172.
- [13] 蓝运华,江绍锋,龚有丽,等.会仙湿地水体百草枯污染及其固定/转化率[J].广西师范大学学报:自然科学版,2014(4):142-151.

## (上接第22页)

- [5] 张莉,王芳.气相色谱-质谱联用快速测定饮用水源水中半挥发性有机物[J].化学分析计量,2011,20(5):42-43.
- [6] 杨翠萍,连进军,谭培功,等.环境污染事故中挥发性有机物快速定量方法[J].化学分析计量,2006,15(6):35-37.
- [7] VDA 278: 2002 Thermodesorption analysis of organic emissions for the characterization of non-metallic automobile interior materials [S].
- [8] ISO 16000-6: 2011 Indoor air-Part 6: Determination of volatile organic compounds in indoor and test chamber air by active sampling on Tenax TA sorbent, thermal desorption and gas chromatography using MS or MS-FID [S].
- [9] HJ/T400-2007 车内挥发性有机物和醛酮类物质采样测定方法[S].

## 检测唾液可验出癌症 仅需 10 min

据英国《每日电讯报》报道,科学家正在研究一项 10 min 内仅靠唾液即可完成癌症检测的技术。美国加州大学肿瘤学教授大卫·王(David Wong)表示,这种检测能够查出肿瘤 DNA 是何时在体液内循环的,也被称之为“液体活检”。

此项唾液检测可达到 100% 的精确程度,并且操作简单,不仅药剂师和牙医能够操作,而且在家也可完成。

目前,科学家仅可通过血液测试来检测癌症,前提是已经接受活检并对某一肿瘤进行测序,从而得知该追踪的基因特征。不过,尽管这种办法可以检测癌症的扩散,但却不能被用作初期测试,并且会出现假阳性的结果。

大卫·王教授的检测显示一滴唾液便可提供足够的数数据,以便尽快给出一个确切的诊断。其优点不仅在于其无创性,而且费用低,仅需 15 英镑。

这项检测即将应用到肺癌患者的临床试验当中,并有望在两年之内获得美国食品和药物管理局的审批。王教授相信它还可应用于其它类型癌症的检测,如口腔癌。他在华盛顿举办的美国科学促进协会年会上表示:“如果某患者的血液或唾液中存在肿瘤循环的迹象,那么这项检测即可找到它。我们只需一点唾液,10 min 内即可完成。”同时他还表示:

“癌症的早期检测至关重要,查出致命肿瘤越早越好。有了这项检测,患者可自行在家进行,抑或在牙医处、药店里都可以。”该检测旨在寻找血液中携带肿瘤的突变基因。

(仪器信息网)

## 我国将发射首颗用于观测二氧化碳的卫星

据悉,为有效掌握全球二氧化碳分布情况,“十二五”国家 863 计划设置了“全球二氧化碳监测科学实验卫星与应用示范”重大项目(简称“碳卫星”)。目前中国首颗“碳卫星”载荷研制已进入冲刺阶段,卫星将于 2016 年 5 月正式出场,并于 2016 年 8 月发射。

本次发射的卫星将以二氧化碳遥感监测为切入点,研制并发射以高光谱二氧化碳检测仪,多谱段云与气溶胶探测仪为主要载荷的高空间分辨率和高光谱分辨率全球二氧化碳监测科学实验卫星。它存在的意义就是,将为全球解决温室效应和碳排放以及其带来的直观影响提供有效、具体的数据。

而该工程共分为卫星系统、运载火箭系统、发射场系统、测控系统和地面应用系统 5 部分。一旦成功,我国在气候峰会和环境外交等方面就将得到重要的支撑,也能够在这件事情上处于更加主导地位。

(威锋网)