

超高效液相色谱-串联质谱法测定土壤中 8 种农药残留

张大为 (实朴检测技术(上海)股份有限公司, 上海 201108)

摘要 [目的]建立土壤中 8 种农药残留的超高效液相色谱-串联质谱分析法。[方法]土壤样品采用 0.1% 甲酸-乙腈溶液超声提取, PSA/C₁₈ 吸附剂或 PEP 小柱净化后, 以乙腈和 0.1% 甲酸水为流动相进行梯度洗脱, ACQUITY UPLC BEH C₁₈ 色谱柱分离, 在多反应监测模式下进行定性定量分析。[结果]8 种农药在 0.1~100.0 μg/L 线性关系良好 ($R^2 \geq 0.995$), 方法的加标回收率在 82.4%~109.0%, RSD 在 0.709%~2.740%, 方法检出限为 0.1 μg/kg。[结论]该方法快速、高效、准确、灵敏度高, 可用于土壤中 8 种农药残留量的同时测定。

关键词 超高效液相色谱-串联质谱法; 农药残留; 土壤; 固相萃取

中图分类号 X 833 文献标识码 A

文章编号 0517-6611(2022)21-0199-04

doi: 10.3969/j.issn.0517-6611.2022.21.050



开放科学(资源服务)标识码(OSID):

Determination of Eight Kinds of Pesticide Residues in Soil by Ultra-high Performance Liquid Chromatography-tandem Mass Spectrometry

ZHANG Da-wei (SEP Analytical Services(Shanghai) Co., Ltd., Shanghai 201108)

Abstract [Objective] To establish an ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry method for the analysis of eight pesticide residues in soil. [Method] The soil samples were extracted by ultrasonic extraction with 0.1% formate-acetonitrile solution, purified by PSA/C₁₈ or PEP solid phase extraction column. The compounds were separated by gradient elution with acetonitrile and 0.1% formic acid water as mobile phases on ACQUITY UPLC BEH C₁₈ column. Qualitative and quantitative analysis was performed in multiple reaction monitoring mode (MRM). [Result] The eight pesticides had a good linear relationship between 0.1 and 100.0 μg/L ($R^2 \geq 0.995$). The recovery rates of the methods were 82.4%~109.0%, and the RSDs were 0.709%~2.740%. The detection limit of the method was 0.1 μg/kg. [Conclusion] This method is rapid, efficient, accurate and high sensitivity, and can be used for simultaneous determination of 8 pesticide residues in soil.

Key words Ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry method; Pesticide residues; Soil; Solid phase extraction

农药在农业生产中起着至关重要的作用,可以有效地防治病、虫、草害,保护作物,增加粮食产量^[1-2],但多数农药都具有一定的毒性,近年来农药的大量使用已经对生态环境造成严重污染,各环境中农药残留量超标,尤其是在食品中的农药残留通过食物链直接进入人体富集,引起中毒、致畸、致癌等疾病,给人类健康造成极大的危害^[3-4]。因此农药残留问题一直是人们研究的热点问题,我国已制定了一系列相关法规来限制农药残留问题^[5]。近 10 年,有关饮用水和食品中农药残留检测的标准比较多,可检测的农药的种类高达数百种,如《饮用水中 450 种农药及相关化学品残留量的测定液相色谱-串联质谱法》(GB/T 23214—2008)、《食品安全国家标准 植物源性食品中 331 种农药及其代谢物残留量的测定 液相色谱-串联质谱法》(GB/T 23200.121—2021)、《水果和蔬菜中 450 种农药及相关化学品残留量的测定 液相色谱-串联质谱法》(GB/T 20769—2008)等。

农药残留的前处理技术有 QuEChERS、固相萃取(SPE)、凝胶渗透色谱(GPC)、加速溶剂萃取法(ASE)等^[6-9]。其中 QuEChERS 法是通过吸附剂与基质中杂质的相互作用来除去杂质,具有简单快速、省时经济、适用范围广的特点,在农药多残留检测中应用广泛^[10-12]。固相萃取法是利用吸附剂与分析物的吸附作用,将分析物固定在吸附剂上,再用洗脱液洗脱,将分析物与干扰物分离,具有高效、减少杂质引入、高回收率的特点,适用于复杂基质样品的前处理^[13-15]。文献

报道中多种农药同时检测的方法主要有气相色谱法(GC)^[16-17]、气相色谱质谱法(GC-MS)^[18-19]、液相色谱法(LC)^[20-21]、液相色谱-串联质谱法(LC-MS)^[22-25]等。其中 GC 法和 GC-MS 法不适用于受热易分解和部分不挥发性农药化合物的检测;LC 法可用于强极性、低挥发性和热不稳定性农药的分析,分离能力强,但对于复杂基质受干扰较大,检出限相对 LC-MS 较高^[26];LC-MS 技术同时具有色谱的强分离能力和质谱的高灵敏度、高选择性,可减少干扰物的影响,能够准确定性定量。

土壤作为重要的农药残留迁移媒介,越来越受到我国政府的重视。2017—2019 年,生态环境部出台了一系列有关土壤和沉积物中农药残留检测的重要标准,如《土壤和沉积物有机氯农药的测定 气相色谱-质谱法》(HJ 835—2017)、《土壤和沉积物有机氯农药的测定 气相色谱法》(HJ 921—2017)、《土壤和沉积物 氨基甲酸酯类农药的测定 柱后衍生-高效液相色谱法》(HJ 960—2018)、《土壤和沉积物 氨基甲酸酯类农药的测定 高效液相色谱-三重四极杆质谱法》(HJ 961—2018)、《土壤和沉积物 苯氧羧酸类农药的测定 高效液相色谱法》(HJ 1022—2019)、《土壤和沉积物 有机磷类和拟除虫菊酯类等 47 种农药的测定 气相色谱-质谱法》(HJ 1023—2019)、《土壤和沉积物 11 种三嗪类农药的测定 高效液相色谱法》(HJ 1052—2019)等,这些标准大多采用 GC 法、LC 法和 GC-MS 法,仅有标准 HJ 961—2018 采用 LC-MS 法。随着科技发展和社会进步,近年来环境中农药残留量会逐年降低,对其检测方法的灵敏度要求越来越高。开发高灵敏度 LC-MS 法来检测土壤中农药残留,对土壤中多种农药残留

基金项目 国家重点研发计划(2019YFC1806100)。

作者简介 张大为(1983—),男,安徽安庆人,工程师,从事环境化学分析与检测方法研究。

收稿日期 2022-06-02

的监测具有重要意义。该研究采用超高效液相色谱串联三重四级杆质谱技术(LC-MS/MS)建立了同时测定土壤中甲胺磷、乙酰甲胺磷、氧化乐果、乐果、甲基嘧啶磷、三环唑、萎锈灵和唑螨酯8种农药残留的分析检测方法,以期为土壤环境中多种农药残留的实时监测提供参考。

1 材料与与方法

1.1 标准品与试剂 8种农药标准品(甲胺磷、乙酰甲胺磷、氧化乐果、乐果、甲基嘧啶磷、三环唑、萎锈灵和唑螨酯),购自上海安谱实验科技公司,浓度均为100 μg/mL。甲醇和乙腈均为色谱级(美国ThermoFisher公司);甲酸为LCMSMS级(国药试剂公司);超纯水(美国Millipore公司);C₁₈吸附剂和PSA吸附剂(N-丙基乙二胺,40~63 μm,6 nm),购自上海安谱实验科技公司;PEP固相萃取柱(填料为二乙烯苯和N-乙炔基吡咯烷酮共聚物,500 mg/6 mL)和C₁₈固相萃取柱(500 mg/6 mL),均购自天津博纳艾杰尔公司;其他未注明的试剂均为国药分析纯。

1.2 仪器设备 Xevo TQ-S micro超高效液相色谱-三重四级杆质谱联用仪(美国Waters公司);超声波清洗器、漩涡混合器、离心机、氮吹仪等其他实验室常规设备。

1.3 标准溶液配制 分别准确吸取8种农药标准溶液,用乙腈稀释成1 mg/L混合标准溶液,4℃保存,准确吸取混合标准溶液用乙腈-水混合溶液(*v/v*=1/1)配制成浓度分别为0.1、0.5、1.0、5.0、10.0、50.0、100.0 μg/L的系列标准溶液。

1.4 样品前处理 准确称取2.0 g土壤试样(精确至0.01 g)于50 mL离心管中,加入适量硅藻土研磨均匀使样品均质,加入10 mL 0.1%甲酸乙腈溶液、3~5 g NaCl,涡旋混匀2 min,于超声清洗仪中超声30 min,以8 000 r/min离心5 min,取上层清液过0.45 μm微孔滤膜后备用。

PEP固相萃取柱净化法:依次加入6 mL甲醇、6 mL超纯水充分活化固相萃取柱。取5 mL提取液用超纯水稀释至100 mL过固相萃取柱,流速控制在约3 mL/min,用超纯水淋洗小柱,将固相萃取柱在负压条件下抽真空5 min进行干燥后,加入5 mL 0.1%甲酸-乙腈溶液浸泡5 min后进行洗脱,流速控制在约3 mL/min,收集洗脱液于离心管中,在氮吹仪上用高纯氮气吹至近干,控制氮气流使溶剂表面有细微波动,1 mL初始流动相复溶,涡旋混匀,过0.22 μm微孔滤膜后,供LC-MS/MS分析。

PSA/C₁₈吸附剂净化法:取5 mL萃取液于预先加入150 mg无水MgSO₄、150 mg PSA、150 mg C₁₈吸附剂的离心管中,涡旋2 min,以8 000 r/min离心5 min,取上层清液经0.22 μm微孔滤膜过滤后,供LC-MS/MS分析。

1.5 液相色谱条件 色谱柱为ACQUITY UPLC BEH C₁₈(2.1 mm×100 mm,1.7 μm)。流动相A为乙腈,流动相B为0.1%甲酸水溶液,梯度洗脱。流速0.4 mL/min。柱温40℃。

1.6 质谱条件 电喷雾离子化源,正离子模式ESI;离子源温度150℃;脱溶剂气流量为1 000 L/h;锥孔气流量为50 L/h。碰撞气为氩气;脱溶剂气为N₂。检测方式为多反应监测(MRM),多反应监测条件见表1。

表1 8种农药成分的质谱分析条件

Table 1 Mass spectrometry analysis conditions of eight pesticide components

农药 Pesticide	母离子 Precursor ion (<i>m/z</i>)	子离子 Product ion (<i>m/z</i>)	锥孔电压 Cone hole voltage/V	碰撞能量 Collision energy/V
甲胺磷 Methamidophos	142.1	94.0 [*] /125.0	38	16/12
乙酰甲胺磷 Acephate	183.9	143.2 [*] /95.2	6	6/20
氧化乐果 Omethoate	214.0	183.2 [*] /125.2	10	10/20
乐果 Dimethoate	230.0	199.1 [*] /125.2	20	8/20
甲基嘧啶磷 Pirimiphos-methyl	306.2	108.4 [*] /164.3	36	32/20
三环唑 Tricyclazole	189.9	163.2 [*] /136.2	16	20/26
萎锈灵 Carboxin	236.0	143.2 [*] /87.2	20	14/24
唑螨酯 Fenpyroximate	422.3	366.1 [*] /138.3	20	14/34

注: * 为定量离子

Note: * means quantitative ion

2 结果与分析

2.1 提取条件优化 该试验分别采用乙腈、0.1%甲酸-乙腈溶液、0.1%甲酸-水溶液、0.1%甲酸-乙酸乙酯溶液4种提取溶剂对土壤中8种农药成分加标样(加标浓度为1 μg/kg)进行提取,比较其提取效率。结果表明(图1),用乙腈提取的共提取物较多,杂质干扰较大,目标化合物的响应值较差。考虑到8种农药中部分成分具有一定极性,在碱性介质中不稳定,在中性和酸性介质中稳定,且加入甲酸有助于提高目标化合物离子化效率,提高灵敏度,因此在提取剂中加入适量甲酸进行提取,结果发现0.1%甲酸-水溶液和0.1%甲酸-乙酸乙酯溶液对土壤中目标化合物的提取效率均较差,0.1%甲酸-乙腈溶液的提取效率较高。因此最终选择0.1%甲酸-乙腈溶液作为提取溶剂。

2.2 净化条件优化 该试验分别采用C₁₈固相萃取柱、PEP固相萃取柱、150 mg PSA/150 mg C₁₈吸附剂共3种净化方式对土壤中8种农药成分加标样(加标浓度为1 μg/kg)进行净化处理,比较回收率。结果表明,C₁₈固相萃取柱净化法的回收率较差,PEP固相萃取柱和PSA/C₁₈吸附剂净化法的回收率较高,达到86%~112%。其中PSA/C₁₈吸附剂净化法操作简单高效,C₁₈可清除样品基质中脂肪和酯类等非极性杂质,PSA可清除许多极性杂质,如脂肪酸、有机酸、部分色素等,对各种性能差异较大的农药残留物具有较高的回收率,因此该试验采用150 mg PSA/150 mg C₁₈吸附剂对样品进行净化。如果样品基质复杂可采用PEP固相萃取柱净化法。

2.3 色谱质谱条件优化 该试验分别采用乙腈-水、乙腈-0.1%甲酸水、乙腈-5 mmol/L甲酸铵水共3种流动相组合对土壤中8种农药成分进行测定。结果表明,当采用乙腈-水作为流动相时,目标物的响应值较低,其中氧化乐果、甲胺磷、乙酰甲胺磷3种强极性化合物的色谱峰具有严重的溶剂效应,且基线噪音较大。当采用乙腈-0.1%甲酸水作为流动相时,有助于促进目标化合物离子化,提高响应强度,改善峰型。采用乙腈-5 mmol/L甲酸铵水作为流动相时,部分化合物在碱性介质中不稳定。因此最终选择乙腈-0.1%甲酸水作为流动相。

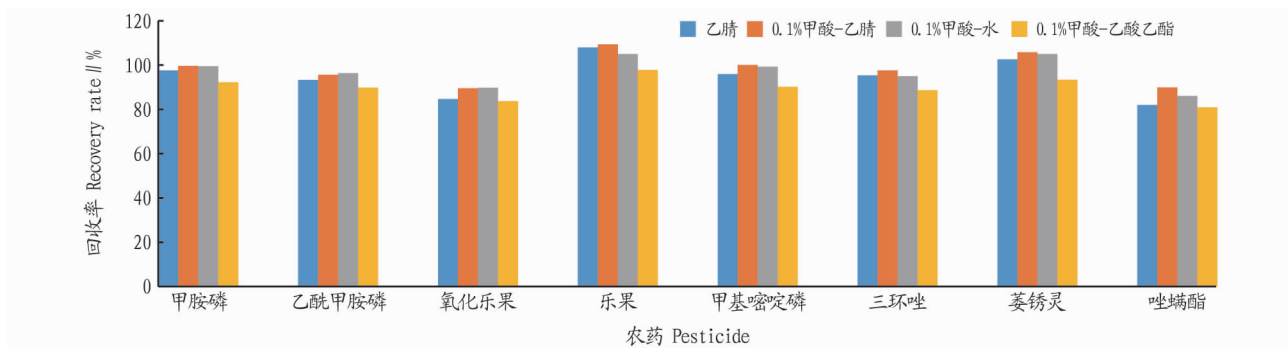


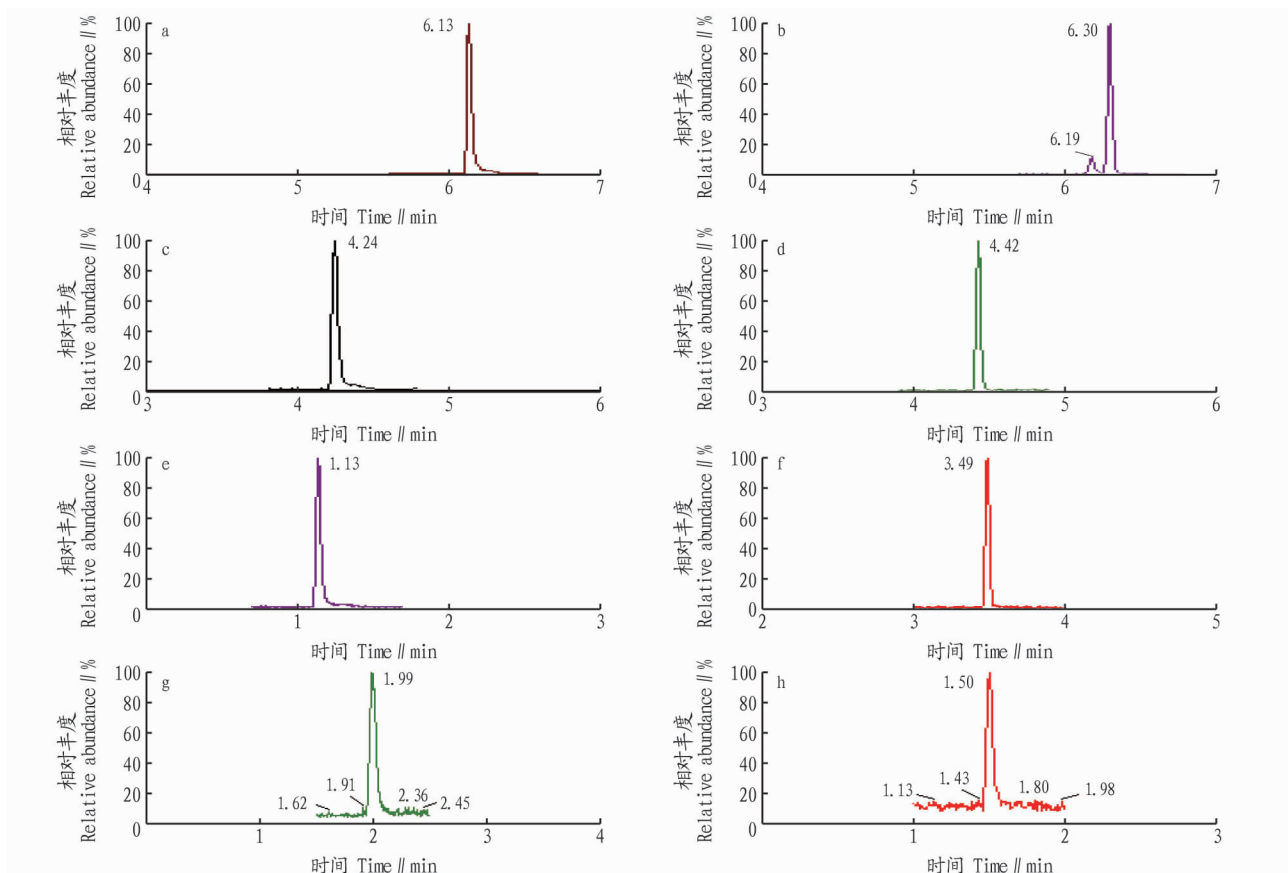
图 1 不同提取溶剂的提取效率

Fig. 1 Extraction efficiency of different extraction solvents

该方法以乙腈和 0.1% 甲酸水为流动相,采用 ACQUITY UPLC BEH C₁₈(2.1 mm×100 mm, 1.7 μm) 色谱柱进行梯度优化。鉴于强极性目标物的出峰时间较早,影响检测,用起始流动相平衡 1 min,延迟强极性目标物的出峰时间,进而调整流动相的比例及其变化速率,使 8 种农药成分的色谱峰彼此分离。该方法可在 10 min 内完成土壤中 8 种农药成分的分

离检测,峰型尖锐,分离效果良好。的优化。分别在正离子和负离子模式下进行母离子扫描,发现在正离子模式下目标化合物母离子响应较高,且容易获取 H⁺,进一步优化毛细管电压、脱溶剂气温度、脱溶剂气流量、锥孔电压、碰撞能量等质谱参数,使每种目标化合物的母离子和子离子的峰响应强度达到最高,并找出响应强度高且稳定存在的 2 个特征碎片离子作为定量离子和定性离子。优化后 8 种农药成分多反应检测 MRM 图谱如图 2 所示。

采用浓度为 1 mg/L 的 8 种农药标准溶液进行质谱参数



注:a. 甲基嘧啶磷(6.13 min);b. 唑啉酯(6.30 min);c. 乐果(4.24 min);d. 萎锈灵(4.42 min);e. 甲胺磷(1.13 min);f. 三环唑(3.49 min);g. 氧化乐果(1.99 min);h. 乙酰甲胺磷(1.50 min)

Note:a. Pyrimidine-methyl (6.13 min);b. Fenprophate (6.30 min);c. Dimethoate (4.24 min);d. Carboxin (4.42 min);e. Methamidophos (1.13 min);f. Trietazolone (3.49 min);g. Omethoate (1.99 min);h. Acephate (1.50 min)

图 2 8 种农药成分多反应检测 MRM 图谱 (1 ng/mL)

Fig. 2 The MRM chromatogram of eight pesticides components(1 ng/mL)

2.4 线性方程和检出限 取“1.3”中所配制的系列标准溶液,在“1.5”和“1.6”的仪器条件下按浓度由低到高的顺序依次进样测定,以目标化合物各组分定量离子峰面积为纵坐标(Y)、以其对应的系列浓度为横坐标(X),建立标准曲线。结果表明(表2),8种农药在0.1~100.0 $\mu\text{g/L}$ 线性关系良好($R^2 \geq 0.995$),且8种农药的检出限均为0.1 $\mu\text{g/kg}$,定量限均为0.4 $\mu\text{g/kg}$ 。

表2 8种农药成分的线性方程和检出限

Table 2 The linear regression and LOD of eight pesticide components

农药 Pesticide	线性方程 Linear equation	决定系数 Determination coefficient (R^2)	检出限 LOD $\mu\text{g/kg}$	定量限 LOQ $\mu\text{g/kg}$
甲胺磷 Methamidophos	$Y=9\ 001.12X+123.001$	0.999	0.1	0.4
乙酰甲胺磷 Acephate	$Y=28\ 210X+1\ 477.69$	0.998	0.1	0.4
氧化乐果 Omethoate	$Y=14\ 861X+672.492$	0.997	0.1	0.4
乐果 Dimethoate	$Y=19\ 480.5X+1\ 219.61$	0.995	0.1	0.4
甲基嘧啶磷 Pirimiphos-methyl	$Y=35\ 076.1X+941.644$	0.998	0.1	0.4
三环唑 Tricyclazole	$Y=4\ 219.18X+84.898\ 1$	0.999	0.1	0.4
羧锈灵 Carboxin	$Y=15\ 186.1X+649.817$	0.995	0.1	0.4
唑螨酯 Fenpyroximate	$Y=8\ 939.48X+666.254$	0.999	0.1	0.4

2.5 精密度和准确度试验 取某农药场地土壤样品,用8种农药混合标准溶液加标后制备成浓度为1 $\mu\text{g/kg}$ 的加标样6份,经前处理后,上机测定,计算6次平行测定的相对标准偏差(RSD)和加标回收率。结果表明(表3),8种农药成分的RSD在0.709%~2.740%,加标回收率在82.4%~109.0%,表明该方法的加标回收率和精密度高。

表3 土壤中8种农药成分的精密度和加标回收率($n=6$)

Table 3 Precision and recovery rate of 8 pesticides in soil samples

农药 Pesticide	加标量 Spiked amount $\mu\text{g/kg}$	RSD %	加标回收率 Recovery rate/%
甲胺磷 Methamidophos	1.0	0.748	101.0
乙酰甲胺磷 Acephate	1.0	2.740	96.1
氧化乐果 Omethoate	1.0	1.360	84.2
乐果 Dimethoate	1.0	0.709	109.0
甲基嘧啶磷 Pirimiphos-methyl	1.0	1.510	96.0
三环唑 Tricyclazole	1.0	1.400	95.0
羧锈灵 Carboxin	1.0	0.945	103.0
唑螨酯 Fenpyroximate	1.0	2.070	82.4

2.6 实际样品定量分析 采集某农药场地土壤样品进行了定量分析,结果表明,羧锈灵浓度为0.6 $\mu\text{g/kg}$,加标回收率为85.0%;三环唑浓度为0.7 $\mu\text{g/kg}$,加标回收率为104.0%;其他目标化合物均未检出。该方法灵敏度高、稳定性好,满足土壤中多种农药残留定量检测的要求。

3 结论

本研究建立了可同时测定土壤中8种农药残留量的超

高效液相色谱-串联质谱分析法。用0.1%甲酸-乙腈溶液提取,用PSA/ C_{18} 吸附剂净化,以乙腈和0.1%甲酸水为流动相进行梯度洗脱,ACQUITY UPLC BEH C_{18} 色谱柱分离,采用多反应监测模式,同时完成8种农药残留的定性定量分析。该方法操作简便、经济高效、灵敏度高,具有良好的精密度和准确度,适用于土壤中多种农药残留量的检测,为土壤中多种农药残留的实时监测提供依据。

参考文献

- [1] 焦斌,徐军,刘新刚,等.超高效液相色谱串联质谱检测啉啉唑等6种农药在我国典型土壤中的残留[J].农业资源与环境学报,2020,37(3):424-431.
- [2] 张传清,周明国,朱国念.稻瘟病化学防治药剂的历史沿革与研究现状[J].农药学报,2009,11(1):72-80.
- [3] 魏天龙.高效液相色谱法同时测定生活饮用水中七种有机磷农药残留研究[D].兰州:西北师范大学,2013.
- [4] 庭立宗.农药危害及绿色植保技术[J].北京农业,2016(2):55.
- [5] 刘敏,端裕树,宋苑苑,等.分散固相萃取-液相色谱-质谱检测蔬菜水果中氨基甲酸酯和有机磷农药[J].分析化学,2006,34(7):941-945.
- [6] 王连珠,周昱,陈泳,等. QuEChERS 样品前处理-液相色谱-串联质谱法测定蔬菜中66种有机磷农药残留量方法评估[J].色谱,2012,30(2):146-153.
- [7] 谢吉林,肖海军,张俊,等.分散固相萃取-气质联用法同时检测茶叶中32种农药多残留[J].西南师范大学学报(自然科学版),2015,40(12):27-32.
- [8] 闫蕊,邵明媛,鞠福龙,等.加速溶剂萃取-高效液相色谱串联质谱法测定土壤中农药残留[J].分析化学,2013,41(2):315-316.
- [9] 张焱岫,汪金生,贾乃峰,等.农药残留检测的前处理技术[J].现代农业科技,2011(2):27-28.
- [10] 刘亚伟,董一威,孙宝利,等. QuEChERS 在食品中农药多残留检测的应用研究进展[J].食品科学,2009,30(9):285-289.
- [11] 王正玮,黎其万,梅文泉,等.新型农药残留净化材料的筛选研究[J].安徽农业科学,2018,46(35):165-168.
- [12] 黄梅花.液相色谱-串联质谱法测定合水粉葛中氟虫腈-甲拌磷和克百威及其代谢物残留量[J].安徽农业科学,2018,46(18):157-159.
- [13] 刘柱,陈万勤,茅佩卿,等. MSPD-HPLC 法快速测定水果-蔬菜中常用的7种农药残留[J].安徽农业科学,2015,43(21):274-276,279.
- [14] 陈军,张宗祥,杨文武,等.固相萃取-气质联用法测定水中有机氯农药和氯苯类化合物[J].环境监测管理与技术,2015,27(1):46-49.
- [15] 朱炳祺,金强强,田春霞,等.多壁碳纳米管分散固相萃取结合在线GPC/GC-MS/MS技术同时检测茶叶中40种有机磷农药[J].分析测试学报,2018,37(4):404-410.
- [16] 何佩雯,赵海誉,杜钢,等.气相色谱技术在中药农药残留检测中的应用[J].中国实验方剂学杂志,2010,16(2):126-134.
- [17] 赵建伟,岳永德,汤锋,等.气相色谱法测定蔬菜、水果中多种有机磷农药残留[J].安徽农业大学学报,2010,37(1):82-87.
- [18] 罗庆,孙丽娜.超声波提取-GC/MS法同时测定农用土壤中有机氯农药和多氯联苯[J].安徽农业科学,2010,38(22):12195-12197,12245.
- [19] 赵丽,农蕊瑜,师真,等.分散固相萃取-气相色谱-质谱联用测定茶叶中的28种农药残留[J].江苏农业科学,2020,48(12):208-215.
- [20] 蔡英华,吴银良,刘素英,等.反相高效液相色谱法测定鸡蛋中磺胺类药物残留量[J].农业质量标准,2007(2):24-27.
- [21] 姜欣.4种常用有机磷农药反相高效液相色谱分析[J].农药,2009,48(4):272-273.
- [22] LAZARTIGUES A, WIEST L, BAUDOT R, et al. Multiresidue method to quantify pesticides in fish muscle by QuEChERS-based extraction and LC-MS/MS[J]. Analytical & bioanalytical chemistry, 2011, 400(7):2185-2193.
- [23] ISSA M M, TAHA S M, EL-MARSAFY A M, et al. Acetonitrile-Ethyl acetate based method for the residue analysis of 373 pesticides in beeswax using LC-MS/MS and GC-MS/MS[J]. Journal of chromatography B, 2020, 1145:1-6.
- [24] 何倩. QuEChERS-高效液相色谱-串联质谱法测定黄瓜中64种农药残留[J].安徽农业科学,2021,49(22):200-204.
- [25] 王静,刘铮铮,钟光剑.超高效液相色谱-串联质谱法分析土壤及沉积物中氨基甲酸酯类农药[J].中国环境监测,2013,29(4):103-106.
- [26] 王玉健,黄惠玲,董存柱,等.超高效液相色谱-串联质谱法同时测定水产品中9种有机磷农药残留量[J].理化检验-化学分册,2013,49(4):398-401,404.