

doi: 10.11838/sfsc.20160525

基质固相分散萃取 - 高效液相色谱串联质谱法 测定土壤中残留的磺酰脲类除草剂

吴飞¹, 张占恩^{1,3*}, 成昊¹, 张磊²

1. 苏州科技学院环境科学与工程学院, 江苏 苏州 215009;
2. 苏州科技学院江苏省环境科学与工程重点实验室, 江苏 苏州 215009;
3. 江苏省水处理技术与材料协同创新中心, 江苏 苏州 215009)

摘要: 建立了基质固相分散萃取 - 高效液相色谱串联质谱法 (MSPD - HPLC - MS/MS) 测定土壤中 3 种磺酰脲类除草剂 (氯磺隆、甲磺隆、苯磺隆) 残留的分析方法。对基于球磨的基质固相分散萃取条件进行了详细优化, 最终确定最佳条件为: 0.2 g 土壤样品、0.8 g HC - C₁₈ 粉末状分散剂与直径为 8 mm 的小钢珠一起球磨 10 min 后, 转移至空的玻璃萃取小柱, 用 10 mL 乙腈洗脱, 氮气吹干后用甲醇定容至 0.6 mL, 再经 0.22 μm 的滤膜抽滤后装入自动进样瓶中。用 Syncronis C₁₈ 反相色谱柱分离, 以甲醇 (A) ~ 1% 甲酸溶液 (B) 为流动相进行梯度洗脱, 选择反应监测 (SRM) 模式下进行检测。氯磺隆在 20 ~ 200 μg · kg⁻¹, 甲磺隆和苯磺隆在 10 ~ 200 μg · kg⁻¹ 范围内线性良好, 相关系数 r 在 0.997 9 ~ 0.999 5。土壤样品的平均加标回收率在 84.7% ~ 104.6%, 相对标准偏差在 4.5% ~ 7.9% (n=5)。方法的检出限 (S/N=3) 0.32 ~ 0.68 μg · kg⁻¹。该方法简单、效率高、干扰少、回收率高, 满足土壤中除草剂的残留分析要求。

关键词: 基质固相分散萃取; 高效液相色谱串联质谱; 磺酰脲类除草剂; 土壤

中图分类号: S151.9+5

文献标识码: A

文章编号: 1673-6257 (2016) 05-0148-05

磺酰脲类除草剂是目前世界上用量最大的一类除草剂^[1]。目前, 文献报道的磺酰脲类除草剂残留分析的检测方法主要有酶联免疫法 (ELISA)^[2]、高效薄层色谱法 (HPTLC)^[3]、高效液相色谱法 (HPLC)^[4]、液相色谱 - 质谱联用法 (LC - MS 或 LC - MS/MS)^[5-6] 等。ELISA 方法操作简便、检测快速, 但经其筛选的阳性样品或可疑样品必须用质谱进行确证^[7]。HPTLC 法是开放性实验过程, 受环境因素的影响较大, 实验的重复性有待提高。HPLC 法是目前检测磺酰脲类除草剂的常用方法, 但其分析时间较长^[8]。本研究采用的高效液相色谱串联质谱法 (HPLC - MS/MS)^[9] 在最佳仪器条件下可以快速检测土壤中残留的磺酰脲类除草剂。

由于磺酰脲类除草剂的残留量极低且基体日趋复杂, 因此样品前处理是磺酰脲类除草剂残留分析中至关重要的一步^[10]。在处理水和土壤样品时,

大部分使用固相萃取 (SPE)^[11] 的方法, 这种前处理耗时耗力^[12]。本研究采用的样品前处理方法为基质固相分散萃取 (MSPD), 它是由 Baker^[13] 在 1989 年首次提出。该技术浓缩了传统样品前处理中的样品匀化、提取、净化等过程, 减少了组织匀浆、沉淀、离心、pH 值调节和样品转移等操作步骤, 避免了样品的损失^[14]。且集提取与净化于一体, 大大地提高了前处理效率^[15]。建立了基于球磨的基质固相分散萃取 - 高效液相色谱串联质谱法测定土壤中残留的磺酰脲类除草剂的分析法。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

Ultimate 3000 高效液相色谱仪, TSQ Quantum Ultra EMR 三重四极杆质谱检测器; DC - 12 型氮吹仪; KQ - 500KDB 超声波清洗仪; HY - 2 调速多用振荡器; Milli - Q Academic 纯水器。

标准品氯磺隆 (纯度 98.0%)、甲磺隆 (纯度 99.2%)、苯磺隆 (纯度 96.7%) 购于上海农药研究所; HC - C₁₈ 固相吸附剂, 购于上海安普科学仪器有限公司; 弗罗里硅土 (650℃ 灼烧 5 h, 用前加

收稿日期: 2015 - 07 - 10; 最后修订日期: 2015 - 12 - 20

作者简介: 吴飞 (1988 -), 男, 安徽人, 硕士, 研究方向为环境检测分析技术。E - mail: 1244592068@qq.com。

通讯作者: 张占恩, E - mail: zhanenzhang@126.com。

5%水脱活); 中性氧化铝 (450℃灼烧5 h, 用前加5%水脱活); 丙酮、乙酸乙酯、甲醇、乙腈、二氯甲烷均为分析纯; 实验用水为超纯水。

1.2 实验方法

1.2.1 样品前处理

准确称取0.200 g 土壤样品和0.800 g HC-C₁₈装入直径为8 cm、容积约为270 mL的金属制的球罐中, 向金属球加入一定数量的小钢珠后, 盖紧放入自制敞口小盒中, 固定于最大振荡频率(300次·min⁻¹)的振荡器上振荡10 min, 将样品转移至空的玻璃萃取小柱后, 用10 mL乙腈洗脱, 收集洗脱液, 置于60℃水浴中, 用氮吹仪吹干洗脱液; 用甲醇定容至0.6 mL, 并经0.22 μm的滤膜抽滤后装入自动进样瓶中, 待分析。

1.2.2 HPLC-MS/MS 条件

色谱条件: 色谱柱为 SynchronisC₁₈反相色谱柱(100 mm × 2.1 mm, 1.7 μm, USA); 色谱柱流速为0.2 mL·min⁻¹; 柱温为30℃; 进样量为2 μL; 流动相为甲醇(A)~1%甲酸溶液(B), 梯度洗脱程序: 0.0~2.0 min, 40% A; 2.0~5.0 min, 40% A~90% A; 5.0~6.0 min, 90% A~40% A; 6.0~8.0 min, 40% A。

质谱条件: 离子化模式为加热大气压电喷雾离子源(HESI), 正离子模式; 监测模式为选择反应监测(SRM)。喷嘴电压2300 V; 喷雾气温度200℃; 鞘气压力35 Arb; 辅助气压力15 Arb; 毛细管温度300℃, 毛细管压力1.5 mTor。质谱SRM监测模式参数见表1。

表1 3种磺酰胺类除草剂SRM检测模式参数

除草剂	保留时间 (min)	正的质子化离子 (m/z)	监测离子对 (m/z)			碰撞能量 (V)		
氯磺隆	6.44	382.088	56.689	141.241*	167.141	29	14	18
甲磺隆	6.72	358.023	135.220*	167.157	199.000	32	13	10
苯磺隆	7.03	396.097	155.262*	181.180	198.886	11	19	15

注: * 定量离子。

配制一定浓度的3种磺酰胺类除草剂混合标准溶液, 在上述最优化的色谱和质谱条件下, 其色谱图、二级定量离子的质荷比(m/z)值的质谱图及结构式见图1、图2。

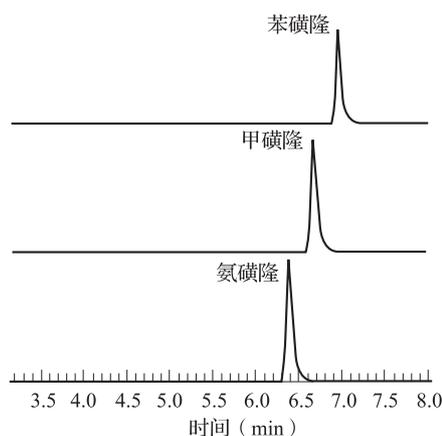


图1 3种磺酰胺类除草剂的色谱图

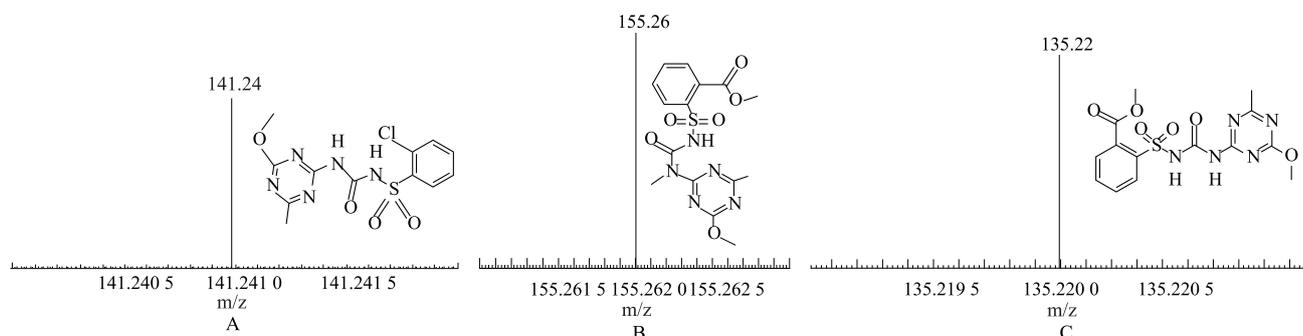


图2 3种磺酰胺类除草剂的二级定量离子的质谱图

注: A、B、C分别为氯磺隆、苯磺隆、甲磺隆的二级定量离子的质谱图。

2 结果与分析

2.1 基质固相分散条件优化

分别称量 0.005 g 3 种标准品于 50 mL 的容量瓶中, 配制成浓度为 $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的磺酰脲类除草剂的混合标准溶液。准确量取 100 μL 上述混合标准溶液, 用甲醇稀释至 10 mL, 加入 20.0 g 不含有目标物的土壤中, 配制成浓度为 $50 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 水平的加标土壤样品, 用于基质固相分散萃取的萃取条件优化。

2.1.1 分散剂的选择

分别考察了 0.8 g 弗罗里硅土、HC-C₁₈ 以及中性氧化铝对目标物的提取效果, 结果如图 3 所示。由于 3 种磺酰脲类除草剂分子均为弱极性, HC-C₁₈ 属于非极性固相吸附剂, 弗罗里硅土为极性弱碱性萃取剂, 中性氧化铝吸附强, 并且只对一些特定类化合物分离效果好。所以根据相似相容原理, HC-C₁₈ 作为非极性固相萃取剂, 有助于疏水性强的磺酰脲类除草剂残留从有机质含量较高的土壤中释放出来, 目标物回收率在 82% 以上。故选择 HC-C₁₈ 作为分散剂。

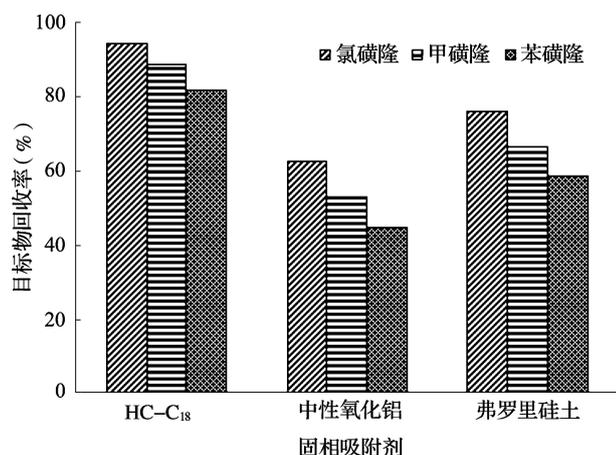


图3 不同固相吸附剂对目标物回收率的影响

2.1.2 洗脱剂及其体积的选择

分别考察了乙腈、丙酮、乙酸乙酯、二氯甲烷的洗脱效果。测定结果表明: 乙腈的洗脱回收率最高, 丙酮次之, 再次是二氯甲烷, 乙酸乙酯最差。因此选用乙腈作为洗脱剂。

分别用不同体积的乙腈进行洗脱效果对比, 实验结果如图 4 所示, 乙腈分 3 次加入, 即每次加 1/3, 让洗脱剂浸润吸附剂后缓慢洗脱, 以提高洗脱效率。洗脱剂用量越大, 目标物的回收率越高。当洗脱体积增加到 10 mL, 回收率达到最高, 进一

步增加乙腈的体积, 3 种目标物的回收率无明显变化, 故选用乙腈的体积为 10 mL。

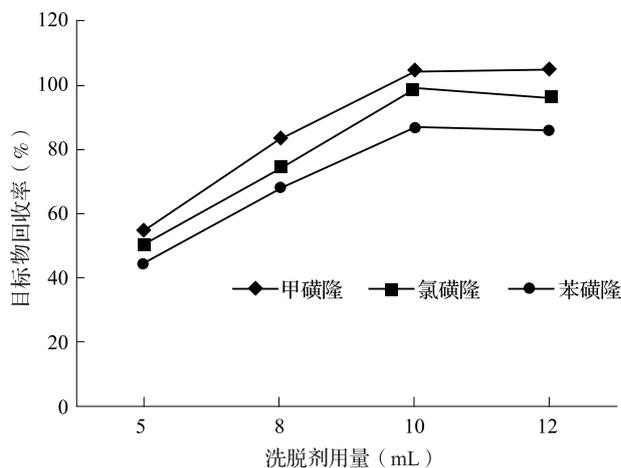


图4 洗脱剂用量对目标物回收率的影响

2.1.3 样品与分散剂比例

分别考察土壤样品与分散剂质量比分别为 1:1、1:2、1:3、1:4、1:5 时的提取效果, 结果如图 5 所示: 当二者比例为 1:1 时, 因为分散剂量较少, 与土壤样品接触不充分, 萃取效果差, 随着分散剂比例提高, 目标物的回收率也随之升高。当二者质量比为 1:4 时, 回收率达到最大。继续增加分散剂用量后, 3 种目标物的回收率基本保持不变。考虑到 HC-C₁₈ 填料成本高, 故选择样品与分散剂的比例为 1:4。

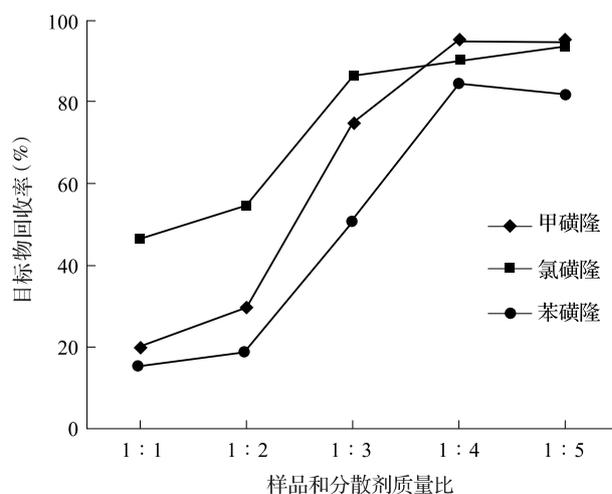


图5 样品和分散剂质量比对目标物回收率的影响

2.1.4 球磨条件的选择

本实验将样品与小钢珠置于金属制的球罐中, 用半自动化的机械振荡方式来替代手工研磨, 分别考察了振荡时间、小钢珠的粒径大小以及数量对萃取效果的影响。

球磨时间的选择: 球磨时间的长短直接影响样品基质分散的程度, 从而影响基质固相分散萃取效果。将加标土壤样品与固相吸附剂一同放入容积约为 270 mL 的金属制球罐中, 加入质量相同 (直径 8 mm) 的小钢珠, 盖紧放入自制敞口小盒中, 置于摇床振荡器上振荡, 分别振荡研磨 3、5、8、10、15 min, 考察研磨时间对回收率的影响。结果显示, 当研磨时间增加时, 3 种目标物的回收率随之增加, 样品与固相吸附剂逐渐均匀分散, 目标物被吸附在固相萃取剂上, 当研磨时间达到 10 min 时目标物的回收率达到最大, 因此选用 10 min 作为最佳研磨时间。

小钢珠粒径的选择: 采用直径分别约为 3、5、6、8、10 mm 的相同数量 (50 颗), 不同粒径的小钢珠, 考察不同粒径大小的小钢珠对目标物回收率的影响。结果显示, 当小钢珠的直径较小时, 3 种目标物的回收率较低, 当用直径约为 8 mm 的小钢珠进行球磨时, 目标物的回收率达到最大, 因此选用直径为 8 mm 的小钢珠。

小钢珠数量的选择: 在加标土壤样品与固相吸附剂的混合物中, 分别加入相同规格 (直径

8 mm), 不同数量的小钢珠考察对萃取效果的影响。结果显示, 随着小钢珠数量的增加, 研磨力度也在增大, 加到 50 颗小钢珠时, 3 种目标物的回收率达到最大, 继续增加小钢珠数量时, 3 种目标物的回收率均降低。可能由于加入小钢珠的数量较多时, 其占金属小球的空间比例较大, 导致振荡时小钢珠的作用力不能起到很好的研磨效果, 所以选择小钢珠 50 颗为宜。

2.2 线性范围、相关系数和检出限

配制浓度分别为 10、20、50、100 和 200 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的磺酰脲类除草剂标准土壤样品, 在最优条件下, 以加标土壤浓度 (x , $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$) 对峰面积 (y) 进行线性拟合, 绘制工作曲线。检出限以仪器 3 倍信噪比计算得出。结果见表 2。另外, 采用了日间重复性实验来证明该方法的稳定性。首先, 将采集的土壤样品分成 5 份, 配制不同浓度的加标土壤样品, 连续每天进行测定一份土壤样品。测定结果表明, 日间重复性实验计算所得的相对标准偏差在 5.1% ~ 9.2% 之间。因此进一步证明了该实验方法的精密度和稳定性。

表 2 方法的线性方程、线性范围、相关系数及检出限

除草剂	线性方程	线性范围 ($\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)	相关系数 (r)	检出限 ($\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)
氯磺隆	$y = 4.0 \times 10^5 x - 1.5 \times 10^5$	20 ~ 200	0.998 5	0.32
甲磺隆	$y = 9.2 \times 10^5 x + 2.1 \times 10^5$	10 ~ 200	0.997 9	0.68
苯磺隆	$y = 1.0 \times 10^5 x - 40 065$	10 ~ 200	0.999 5	0.56

2.3 精密度、稳定性实验及实际样品测定

从苏州市某农村地区采来 3 份农田土样进行测定, 经测定, 3 种磺酰脲类除草剂均未检出。分别

在上述土样中添加 3 种磺酰脲类除草剂, 使其浓度分别为 20 和 100 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 对加标样品平行测定 5 次, 计算回收率和相对标准偏差, 结果见表 3。

表 3 土壤中 3 种磺酰脲类除草剂加标回收率及相对标准偏差 ($n=5$)

土壤样品	加标水平 ($\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)	氯磺隆		甲磺隆		苯磺隆	
		回收率 (%)	RSD (%)	回收率 (%)	RSD (%)	回收率 (%)	RSD (%)
土壤 1	20	92.4	4.8	100.2	6.8	101.2	5.6
	100	94.6	6.0	93.7	7.9	92.3	6.1
土壤 2	20	93.1	4.5	104.6	6.5	100.4	5.4
	100	84.7	6.1	98.6	4.9	98.7	5.0
土壤 3	20	89.6	5.1	94.2	7.8	102.4	5.2
	100	94.8	7.3	99.7	7.6	99.6	6.9

3 结论

本研究采用半自动化基于球磨装置的基质固相

分散萃取技术前处理复杂土壤样品, 与传统的索氏提取方法相比, MSPD 不仅操作简便, 所用有机溶剂量少, 可同时处理多个样品, 大大提高了前处理

的效率,而且避免了由于传统的手工研磨操作给实验的重复性造成的误差。本研究详细优化了 MSPD 条件和色谱、质谱条件,从而建立了基于球磨的基质固相分散萃取-高效液相色谱串联质谱法测定土壤中残留的磺酰脲类除草剂的分析方法,该方法的线性范围宽,灵敏度高,准确度和精密度符合土壤中除草剂残留的分析要求。

参考文献:

- [1] 祁彦,李淑娟,占春瑞. 高效液相色谱-质谱法测定大豆中磺酰脲类除草剂多残留量的研究 [J]. 分析化学, 2004, 32 (11): 1421-1425.
- [2] 刘曙照,冯大和,邵秀金. 氯黄隆酶联免疫吸附分析技术研究 [J]. 分析科学学报, 2000, 16 (6): 461-465.
- [3] 张蓉,岳永德,花日茂. 高效薄层析技术测定 5 种磺酰脲类除草剂方法有效性研究 [J]. 安徽农业大学学报, 2008, 35 (4): 544-549.
- [4] 俞幼芬,高巍,耿宁,等. 液相色谱法同时测定 13 种磺酰脲类除草剂 [J]. 农药, 2009, 48 (11): 811-813.
- [5] 叶贵标,张微,崔昕,等. 高效液相色谱-质谱法测定土壤中 10 种磺酰脲类除草剂多残留 [J]. 分析化学, 2006, 34 (9): 1207-1212.
- [6] 汤凯洁,顾小红,陶冠军,等. 分子印迹固相萃取-液相色谱质谱联用对 4 种磺酰脲类除草剂残留的测定 [J]. 分析测试学报, 2009, 28 (12): 1401-1404.
- [7] 史丽,李昌伟,赵鲁,等. 高效液相色谱-串联质谱同时测定有机肥料中 9 种抗生素药物残留 [J]. 中国土壤与肥料, 2014, (6): 111-115.
- [8] 胡开峰,孙涛,刘圣红,等. 土壤中 13 种磺酰脲类除草剂多残留的超高效液相色谱-串联质谱法测定 [J]. 分析测试学报, 2010, 29 (11): 1216-1220.
- [9] 赵鲁,李旭军,邱静,等. 高效液相色谱-串联质谱测定水溶性肥料中 8 种植物生长调节剂 [J]. 中国土壤与肥料, 2014, (4): 102-107.
- [10] 吴艳娇,付旭维,杨红. 磺酰脲类除草剂在水、土壤及小麦中残留分析的前处理方法研究 [J]. 分析科学学报, 2010, 26 (5): 517-520.
- [11] 唐春玲,张文清,夏玮,等. 固相萃取-高效液相色谱法测定有机肥中四环素类抗生素药物残留 [J]. 中国土壤与肥料, 2011, (2): 92-95.
- [12] 吕晓玲,余永新,王荣艳,等. 磺酰脲类除草剂残留检测技术及其研究进展 [J]. 分析测试学报, 2009, 28 (7): 875-880.
- [13] Baker S A. Matrix solid-phase dispersion [J]. Journal of Chromatography A, 2000, 885 (1-2): 115-127.
- [14] 黄霞. QuEChERS-GC/MS 快速检测柑橘农药多残留的研究 [D]. 重庆:西南大学研究生院, 2011. 12.
- [15] 成昊,张丽君,张磊,等. 基质固相分散萃取-分散液相微萃取-气相色谱质谱法测定土壤中拟除虫菊酯类农药 [J]. 分析化学, 2015, 43 (1): 137-140.

Determination of three sulfonylurea herbicides in soil by matrix solid phase dispersion extraction high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry

WU Fei¹, ZHANG Zhan-en^{1,3*}, CHENG Hao¹, ZHANG Lei² (1. Department of Environmental Science and Engineering, Suzhou University of Science and Technology, Suzhou Jiangsu 215009; 2. Jiangsu Key Laboratory of Environmental Science and Engineering, Suzhou University of Science and Technology, Suzhou Jiangsu 215009; 3. Jiangsu Collaborative Innovation Center of Technology and Material of Water Treatment, Suzhou Jiangsu 215009)

Abstract: An analytical method for the simultaneous determination of 3 sulfonylurea herbicides (Chloride methyl, Methyl methyl, Tribenuron) was established by matrix solid-phase dispersion extraction (MSPD) with high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry (HPLC-MS/MS). Based on ball milling of sample pretreatment of MSPD, the extraction conditions were optimized in detail as following: grinded about 0.2 g soil sample and 0.8 g HC-C₁₈ solid phase extraction powder with 8 mm small steel ball for 10 min and then loaded into the empty glass extraction column. The mixture was eluted with 10 mL of acetone, and concentrated to 0.6 mL with methanol, then choulded by the 0.22 μm membrane and then transferred to the automatic sample bottle. The 3 sulfonylurea herbicides were separated upon a Syncronis C₁₈ column using methanol (A) ~1% formic acid solution (B) as mobile phase by gradient elution, and detected by MS under selected reaction monitoring (SRM) mode. The results indicated that the Chlorsulfuron achieved the good linearities in the range of 20~200 μg·kg⁻¹, and the other two sulfonylurea herbicides achieved the good linearities in the range of 10~200 μg·kg⁻¹, with correlation coefficients from 0.997 9~0.999 5. The recoveries at three spiked levels were ranged from 84.7%~104.6% and RSDs were 4.5%~7.9%. The limits of detection (LODs) for the target compounds ranged from 0.32~0.68 μg·kg⁻¹. The suggested method was simple, efficient, and less interference with high recovery rate, and met the analytical requirements of herbicide residues in soil.

Key words: matrix solid-phase dispersion; high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry; sulfonylurea herbicide; soil