

## 实验技术与方法

## 气相色谱-质谱法测定蔬菜中 65 种除草剂的残留量

杜晓林<sup>1,2</sup>, 荫硕妍<sup>1</sup>, 李荷丽<sup>1</sup>, 苗虹<sup>1,2</sup>, 吴永宁<sup>1,2</sup>

- (1. 国家食品安全风险评估中心 卫生部食品安全风险评估重点实验室, 北京 100021;
2. 中国疾病预防控制中心 化学污染与健康安全重点实验室, 北京 100021)

**摘要:**目的 建立蔬菜中 65 种不同类别除草剂的气相色谱-质谱(GC-MS)检测方法。方法 样品用乙腈超声提取后,经 Carb/NH<sub>2</sub>柱净化,采用 GC-MS 检测,以基质匹配的标准校正曲线外标法定量。结果 除百草唑的线性范围为 20~1 000 μg/L,其他 64 种除草剂在 10~1 000 μg/L 范围内呈良好线性,相关系数均大于 0.998;各农药的方法检出限为 0.02~2.2 μg/kg,定量限为 0.1~7.4 μg/kg;以空白蔬菜样品(选取油菜为代表性基质)进行加标水平为 5、10 和 20 μg/kg 的加标回收试验,除扑草灭和乙氧苯草胺的回收率在 41.1%~59.4% 之间外,各除草剂的回收率均在 60.9%~117.9% 之间,相对标准偏差(RSD)低于 14.0%。对 9 份蔬菜样品(包括土豆、油菜、白菜、菠菜)进行检测,1 份样品(白菜)检出氟乐灵,其含量为 2.0 μg/kg。结论 该检测方法快速、简便、准确,适用于蔬菜样品中除草剂类农药残留的检测。

**关键词:**气相色谱-质谱(GC-MS); 农药残留; 蔬菜; 除草剂

中图分类号:R155.5<sup>+</sup>4 文献标识码:A 文章编号:1004-8456(2013)03-0241-05

**Determination of 65 herbicides in vegetables by gas chromatography-mass spectrometry**

Du Xiaolin, Yin Shuoyan, Li Heli, Miao Hong, Wu Yongning

(Key Laboratory of Food Safety Risk Assessment of Ministry of Health, China National Center for Food Safety Risk Assessment, Beijing 100021, China)

**Abstract: Objective** To develop a new method for quantitative determination of 65 herbicides belonging to different chemical families in vegetables by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). **Methods** Samples were ultrasonically extracted with acetonitrile and the extracts were cleaned up with Carb/NH<sub>2</sub> cartridge before GC-MS analysis. Matrix-matched calibration was used for quantification. **Results** The linearity was satisfying within the range of 10~1000 μg/L, and the coefficients of determination (*r*) were above 0.998. The limits of detection (LODs) and the limits of quantification (LOQs) were 0.02~2.2 μg/kg and 0.1~7.4 μg/kg, respectively. The recoveries for spiked samples at the levels of 5, 10 and 20 μg/kg ranged from 60.9% to 117.9%, except for EPTC and Etobenzanid in the range of 41.1%~59.4%. The relative standard deviations (RSD) were below 14.0%. Trifluralin was detected in 1 out of 9 vegetable samples collected from local market, with the concentration of 2.0 μg/kg. **Conclusion** The proposed method was rapid, simple and sensitive for the analysis of 65 herbicides in vegetables.

**Key words:** Gas chromatography-mass spectrometry(GC-MS); pesticide residue; vegetable; herbicide

近年来,我国除草剂产业发展迅速,其销售总额已经超过杀虫剂和杀菌剂,成为第一大类农药<sup>[1]</sup>。目前,我国登记的除草剂品种有 260 多个,根据化学结构,可分为酰胺类、磺酰胺类、咪唑啉酮类及取代杂环类等<sup>[2]</sup>。乙草胺、甲草胺、禾草敌、乳氟禾草灵等 20 余种除草剂已被美国环保局评价为人类可能致癌物质<sup>[3]</sup>。针对除草剂在蔬菜中的残留状况,世界各国均制定了严格的限量标准,最低限

量达 0.01 mg/kg。国内外有关除草剂检测方法已有较多报道,但是多集中于粮谷类食品和环境样品,且多为按类别检测<sup>[4-11]</sup>。目前,尚未见同时检测蔬菜中化学性质差异较大的多类别除草剂的报道。本研究采用 GC/MS 技术对 65 种农业上广泛使用的除草剂进行测定,旨在建立快速、有效的检测蔬菜中多种除草剂残留的方法,实施对蔬菜产品的监测,保障农产品安全性。

收稿日期:2013-03-14

基金项目:国家科技支撑计划课题(2011BAK10B06)

作者简介:杜晓林 女 研究生 研究方向为食品中农药残留(除草剂残留)检测技术研究 E-mail:xiaolindxl@126.com

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

7890A 气相色谱-5975C 质谱联用仪,配有 7693

自动进样器、Milli-Q 超纯水器、KS-500 超声清洗器、G-560E 涡旋混合器、N-1000 旋转蒸发器、N-EVAPTM 111 氮吹浓缩仪。

所有农药标准物质(纯度  $\geq 95\%$ )均购自 Dr. Ehrenstorfer 公司,蔬菜样品购自当地农贸市场。

乙腈、甲苯、正己烷(色谱纯), Carbon/ $\text{NH}_2$  固相萃取柱(500 mg, 6 ml)、Florisil 固相萃取柱、N-Alumina 固相萃取柱(500 mg, 6 ml)、氯化钠(分析纯)、无水硫酸钠(优级纯,  $650\text{ }^\circ\text{C}$  烘烤 4 h 后使用)。

混合标准溶液的配制:分别准确称量 10.0 mg 除草剂农药标准品置于 10 ml 容量瓶中,用丙酮溶解并定容,配制成 1 000 mg/L 的单标储备液。分别吸取上述 65 种单标储备液 100  $\mu\text{l}$  于 10 ml 容量瓶中,用丙酮定容,制成 10 mg/L 的混合标准工作液,储存于  $-20\text{ }^\circ\text{C}$  冰箱中备用。

## 1.2 方法

### 1.2.1 样品前处理

样品准备:蔬菜样品(去除腐烂部分)制成泥状匀浆样品,储存于  $-20\text{ }^\circ\text{C}$  冰箱中备用。

样品提取:准确称取 10 g 蔬菜浆样品(精确至 0.01 g)于 50 ml 离心管中,加入 20 ml 乙腈,充分涡旋混匀,超声提取 15 min 后,加入 5 g NaCl,涡旋 1 min, 7 000 r/min 离心 5 min, 将乙腈层转移至 100 ml 旋蒸瓶中,在  $30\text{ }^\circ\text{C}$  水浴下旋蒸至近干,以 6 ml 乙腈 + 甲苯(3 + 1, V/V) 溶液溶解并转移旋蒸瓶中的残留物,待 SPE 柱净化。

样品净化:在 Carb/ $\text{NH}_2$  柱上层填入 2 g 无水硫酸钠,然后用 5 ml 乙腈 + 甲苯(3 + 1, V/V) 溶液淋洗活化。当液面即将到达无水硫酸钠层表面时,立即将复溶后的提取液上柱,再以 20 ml 乙腈 + 甲苯(3 + 1, V/V) 溶液洗脱,收集所有流出液,于  $30\text{ }^\circ\text{C}$  水浴下旋蒸至近干,用 1 ml 正己烷溶解残留物并转移至气相色谱进样瓶中,待 GC-MS 检测。

### 1.2.2 气相色谱质谱条件

色谱条件:色谱柱为 DB-5MS 毛细管柱(30 m  $\times$  0.25 mm, 0.25  $\mu\text{m}$ );进样口温度  $260\text{ }^\circ\text{C}$ ;升温程序:起始温度  $60\text{ }^\circ\text{C}$ ,保持 3 min,以  $20\text{ }^\circ\text{C}/\text{min}$  升到  $160\text{ }^\circ\text{C}$ ,保持 1 min,以  $0.5\text{ }^\circ\text{C}/\text{min}$  升到  $170\text{ }^\circ\text{C}$ ,保持 1 min,再以  $5\text{ }^\circ\text{C}/\text{min}$  升到  $240\text{ }^\circ\text{C}$ ,保持 1 min,最后以  $10\text{ }^\circ\text{C}/\text{min}$  升到  $280\text{ }^\circ\text{C}$ ,保持 9 min;载气:氮气,纯度  $\geq 99.999\%$ ;流速:1.0 ml/min;进样体积:1  $\mu\text{l}$ ;进样模式:脉冲不分流进样,脉冲压力 25 psi。

质谱条件:电子轰击离子源(EI),电离能量 70 eV;离子源温度  $230\text{ }^\circ\text{C}$ ;传输线温度  $280\text{ }^\circ\text{C}$ ;四极杆温度  $150\text{ }^\circ\text{C}$ ;扫描方式:选择离子监测(SIM);溶剂延迟时间 6 min。

## 2 结果与讨论

### 2.1 前处理条件的优化

乙腈作为极性溶剂对含水量较高的蔬菜样品中的农药残留有较高的提取效率,尤其适用于多残留分析。目前,农残检测的中国标准方法 GB 19648—2006《水果和蔬菜中 500 种农药及相关化学品残留量的测定 气相色谱-质谱法》和国际上通用的 QuEChERS 方法均采用乙腈进行样品提取。因此本文直接选择乙腈作为提取溶剂,并得到了良好的提取效果。

本文拟采用固相萃取的方法对样品进行净化,65 种除草剂化学性质差异较大,极性范围较宽,选择合适的 SPE 柱是样品前处理的关键。试验了农药残留分析中常用的 N-Alumina 柱、Florisil 柱和 Carb/ $\text{NH}_2$  柱 3 种 SPE 柱对提取液的净化效果。结果显示,解草酮和特草定在 N-Alumina 柱上保留过强,更换洗脱溶剂仍无法将其完全洗脱,导致回收率极低。同样,特草定和莠灭净在 Florisil 柱上不能被完全洗脱。然而,所有除草剂通过 Carb/ $\text{NH}_2$  柱后都没有明显的损失,而且 Carb/ $\text{NH}_2$  柱具有较强的去除色素和有机酸的能力,样品经 Carb/ $\text{NH}_2$  柱净化后干扰较小,因此采用 Carb/ $\text{NH}_2$  柱进行净化。

### 2.2 色谱、质谱条件优化

在全扫描模式下获得每种除草剂的质谱图,参考《欧盟 2002/657/EC 法规》指令中采用低分辨质谱进行确证分析时的评分标准,每种化合物选取一个定量离子,2~3 个定性离子。本方法根据目标化合物质谱图和空白基质样品的质谱图选择相对丰度较高,碎片质量较大,且相互干扰少的特征离子进行 SIM 检测。65 种除草剂的质谱参数见表 1。

调整气相色谱升温程序,以使所有目标化合物达到最大程度分离,由于分析的化合物较多,有些化合物色谱行为较接近,仍有噻节因和广灭灵、噻吩草胺和吡草黄、敌稗和乙草胺等 9 对除草剂不能实现基线分离,但可通过提取离子色谱图的方式得到分离,不影响定性和定量分析的准确性。65 种除草剂的 SIM 色谱图见图 1。

### 2.3 线性试验、检出限和定量限

基质诱导的信号增强是 GC-MS 分析中较常见的基质效应。采用基质匹配的标准校正曲线或同位素内标可对基质效应进行补偿或校正。由于本方法涵盖的化合物种类较多,化学性质差异较大,选择合适的内标对所有化合物进行校正难度较大。试验比较了空白白菜、土豆和油菜基质对待测化合

表 1 目标化合物主要质谱参数、保留时间、检出限、定量限及加标回收试验结果

Table 1 Main parameters of the mass-spectrometry, retention times, LODs, LOQs and Results of blank vegetable fortified experiments

编号	除草剂	保留时间 (min)	定量离子 ( <i>m/z</i> )	定性离子 ( <i>m/z</i> )	LOD ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	LOQ ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	添加水平 ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )					
							5		10		20	
							回收率 (%)	RSD (%)	回收率 (%)	RSD (%)	回收率 (%)	RSD (%)
1	扑草灭	9.21	128	86, 132, 189	0.1	0.4	41.4	12.2	47.8	5.5	59.4	7.3
2	禾草敌	11.86	126	55, 83, 187	0.2	0.6	70.6	0.9	78.6	4.3	100.0	8.5
3	毒草安	13.11	120	176, 77, 93	0.1	0.4	86.1	1.5	95.0	5.3	115.4	9.6
4	伏草隆	13.63	72	232, 187	0.9	3.0	106.8	1.9	108.5	4.8	117.9	6.4
5	灭草特	13.87	83	154, 72, 84	0.2	0.7	71.9	5.9	81.4	6.2	104.3	6.0
6	乙丁烯氟灵	14.10	276	316, 292, 333	0.2	0.6	73.8	2.6	79.7	4.1	104.5	14.0
7	氟苯胺灵	14.43	127	213, 154, 129	0.2	0.7	82.2	2.3	88.3	5.5	107.6	10.5
8	氟乐灵	14.55	306	264, 290, 248	0.02	0.1	75.2	0.8	75.5	3.0	102.3	3.9
9	氟草胺	14.73	292	264, 276, 293	0.02	0.1	75.2	1.1	74.1	3.4	99.0	11.8
10	绿谷隆	17.36	61	126, 214, 99	0.4	1.4	87.7	1.9	97.6	5.0	107.2	8.8
11	噻节因	17.47	54	53, 118, 76	1.2	4.0	80.4	8.4	82.7	2.9	92.2	2.9
12	广灭灵	17.59	125	204, 127, 205	0.1	0.2	84.0	0.6	94.0	2.8	110.9	10.8
13	炔苯酰草胺	18.77	173	175, 145, 147	0.2	0.6	81.8	4.3	87.5	2.7	104.1	10.6
14	特草定	20.06	161	160, 117, 163	0.9	2.9	88.0	7.1	91.1	5.9	94.9	6.5
15	野麦畏	20.48	86	268, 128, 270	0.1	0.4	73.5	1.2	87.1	3.6	112.5	11.9
16	解草酮	21.37	120	176, 259, 261	0.3	0.8	85.0	0.8	88.5	3.6	101.9	10.7
17	噻吩草胺	22.69	154	230, 203, 232	0.1	0.3	87.6	1.2	93.1	4.2	111.0	8.9
18	吡草黄	22.69	163	121, 91, 256	0.1	0.3	84.2	0.9	94.0	4.7	114.8	8.8
19	敌稗	23.09	161	163, 217, 219	0.9	3.1	82.6	3.1	83.6	4.7	92.8	6.3
20	乙草胺	23.27	146	162, 223, 132	0.3	1.1	84.2	2.0	86.9	2.3	110.5	10.7
21	噻草酮	23.50	198	144, 103, 199	0.4	1.3	86.0	0.4	82.9	5.4	94.5	7.1
22	甲草胺	24.19	160	188, 146, 237	0.1	0.3	85.6	1.5	89.2	4.4	110.5	13.1
23	莠灭净	25.52	227	212, 170, 185	0.1	0.4	87.7	1.8	92.6	5.3	111.7	10
24	环庚草醚	25.52	105	123, 107, 93	0.2	0.7	87.2	6.7	86.6	8.8	115.6	3.6
25	氟硫草定	26.30	354	286, 306, 237	0.04	0.1	80.4	2.4	90.9	4.1	114.3	11.4
26	灭藻灵	27.87	172	207, 144, 209	0.4	1.3	86.1	1.3	79.8	4.6	80.3	3.6
27	乙氧吡草黄	27.87	161	207, 137, 286	0.1	0.4	87.7	0.5	93.4	6.2	111.2	8.2
28	禾草畏	28.3	91	222, 162, 71	0.2	0.6	80.1	2.0	88.8	4.3	112.5	11.3
29	异丙甲草胺	28.79	162	238, 146, 240	0.2	0.7	86.0	1.4	89.1	4.3	107.7	9.9
30	噻草啶	29.23	60	327, 363, 306	0.2	0.6	86.3	0.4	90.5	5.0	111.3	11.2
31	禾草丹	29.50	100	72, 125, 257	0.1	0.5	80.8	1.8	91.6	4.4	112.8	9.7
32	氟酰胺甲酯	29.76	301	299, 303, 332	0.1	0.2	79.3	2.0	90.2	3.5	111.5	9.5
33	双苯胺	32.25	167	165, 72, 239	0.1	0.4	87.0	1.0	93.4	3.9	106.3	8.2
34	胺硝草	33.33	252	162, 253, 281	0.3	1.1	81.6	1.2	83.7	2.7	97.4	10.2
35	异戊乙净	34.38	212	213, 255	0.1	0.3	84.1	0.7	85.5	4.0	103.5	11.6
36	啶草丹	34.94	119	91, 145, 112	0.3	0.8	77.1	1.8	83.6	4.8	104.1	11.7
37	丁草胺	36.82	176	160, 188, 237	0.3	1.0	76.2	2.8	86.6	4.8	103.9	10.3
38	抑草磷	37.25	286	96, 202, 200	0.5	1.5	80.4	0.4	77.2	2.4	90.3	9.6
39	萘丙酰胺	37.36	72	128, 100, 271	0.2	0.7	87.7	0.6	88.1	2.6	98.4	8.3
40	丙草胺	38.10	162	176, 238, 202	0.4	1.4	80.8	2.1	88.5	4.7	102.2	9.4
41	恶草灵	38.79	175	177, 258, 302	0.1	0.2	77.1	1.2	91.0	2.9	106.9	8.5
42	乙氧氟草醚	39.23	252	300, 361, 280	0.6	1.9	79.8	2.9	81.7	9.2	92.8	6.3
43	吡氟禾草灵	40.36	282	254, 383, 255	0.1	0.3	81.4	0.4	89.0	4.7	104.6	9.4
44	啶草酮酯	42.25	312	340, 330, 290	0.1	0.3	80.2	2.9	83.9	4.1	91.6	3.1
45	哒草伏	42.25	145	102, 303, 305	0.3	1.1	83.4	6.8	83.0	2.2	82.2	5.7
46	嘧草醚	42.71	302	256, 330, 303	0.1	0.4	84.6	2.3	84.2	4.1	91.1	8.8
47	环嗪酮	42.84	171	71, 83, 128	0.2	0.7	82.5	6.2	87.7	2.9	93.5	5.5
48	噻醚草胺	42.94	127	288, 141	0.1	0.3	74.5	5.4	79.2	6.2	86.3	4.9
49	炔草酯	42.98	238	266, 349, 130	0.1	0.4	79.5	3.8	77.9	5.1	86.2	6.0
50	禾草灵	43.51	253	340, 255, 342	0.2	0.7	75.8	2.5	88.9	3.3	98.2	7.0
51	砒氟草胺	43.69	266	394, 267	0.04	0.1	81.1	4.1	88.0	5.6	95.6	7.1
52	稗草畏	44.31	165	108, 181, 93	0.1	0.3	78.5	3.7	81.4	2.7	95.5	7.8
53	啶草磷	45.09	122	140, 320, 97	0.2	0.6	75.9	4.4	75.7	4.1	83.4	7.4
54	吡氟醚草胺	45.18	238	376, 239, 377	0.1	0.2	79.4	4.4	83.3	5.5	87.8	7
55	解毒啶	45.28	192	194, 193	0.2	0.6	74.4	5.7	78.0	4.8	89.1	9.3
56	治草醚	45.76	341	343, 173, 189	0.8	2.8	80.6	2.1	79.5	3.9	84.0	5.2
57	环戊恶草酮	46.44	70	285, 286, 287	0.1	0.2	79.8	3.4	86.1	4.1	88.1	7.1
58	苯噻醚草胺	46.79	192	136, 120, 148	0.2	0.6	79.7	5.0	80.6	6.4	96.4	12.4
59	氟氟草酯	47.03	256	357, 229, 120	0.1	0.4	80.6	4.3	87.4	6.0	91.4	4
60	乳氟禾草灵	47.35	344	345, 346, 223	0.6	2.0	80.1	3.9	84.6	4.8	88.2	5.5
61	氟丙嘧草酯	49.13	331	333, 180, 332	0.03	0.1	78.0	3.2	76.5	7.0	84.9	7.2
62	乙氧苯草胺	49.10	179	149, 121, 180	0.6	1.9	41.1	3.7	41.5	4	50.5	9.9
63	氟啶酮	50.80	328	329, 330	0.1	0.4	63.8	4.4	60.9	4.6	61.2	4.2
64	卞草啞	52.67	105	91, 77, 119	2.2	7.4	83.6	6.7	94.5	3.5	102.5	6.6
65	氟烯草胺	53.61	423	308, 107, 318	0.3	0.9	74.7	3.4	77.1	5.7	81.7	4.7

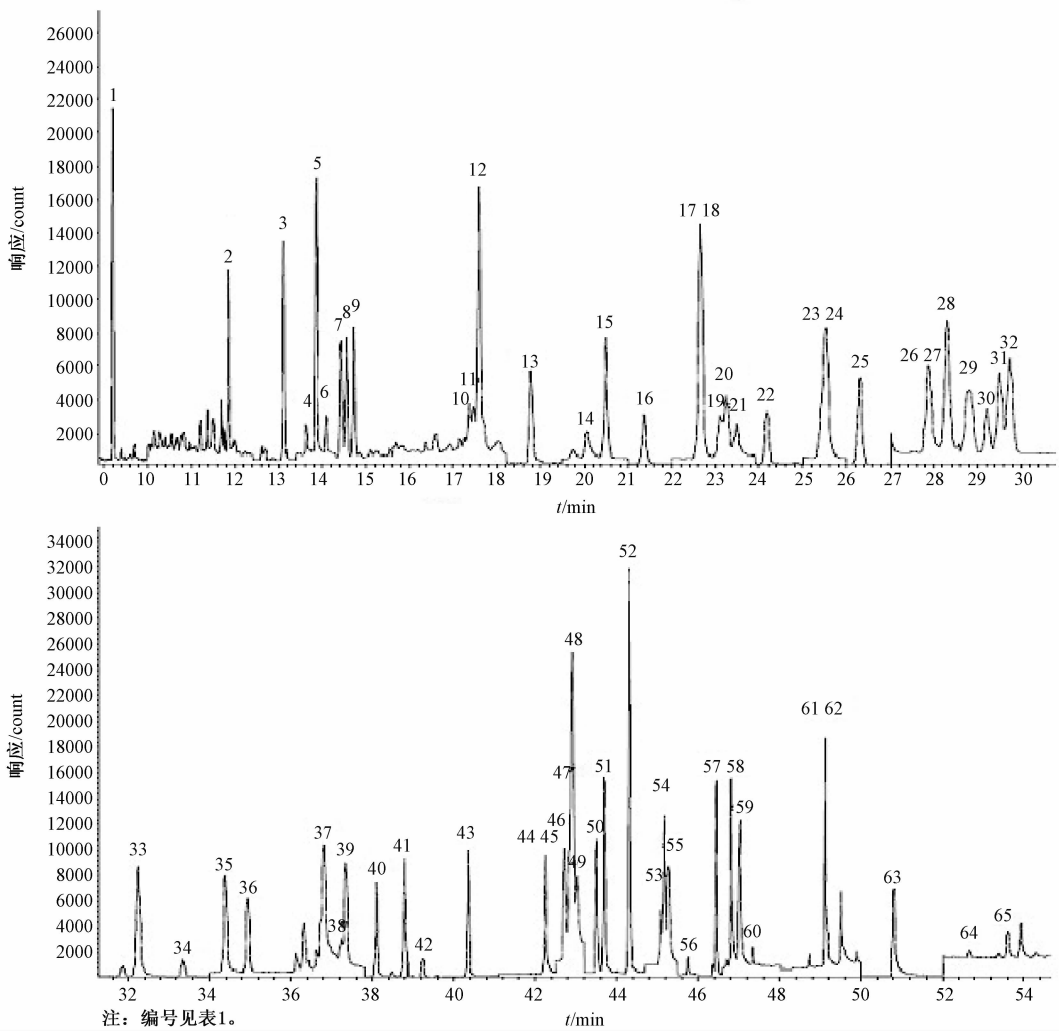


图1 以空白蔬菜提取液基质匹配的65种除草剂(200  $\mu\text{g/L}$ )的SIM色谱图

Figure 1 SIM chromatography of 65 herbicides in blank vegetable matrix

物响应的影响,结果表明,采用空白蔬菜样品提取后的溶液配制基质匹配的标准校正曲线,以外标法进行定量,取得了较好的结果。而且不同蔬菜基质的影响没有明显差别,64种化合物在10~1000  $\mu\text{g/L}$ 范围内均呈良好线性,只有吡草啉的线性范围为20~1000  $\mu\text{g/L}$ 。

在空白油菜样品中添加1、2和5  $\mu\text{g/kg}$ 三个水平的除草剂农药,按已建立的方法测定,以最接近3倍信噪比的加标水平进行计算,3倍信噪比对应的加标水平为检出限,10倍信噪比对应的加标水平为定量限,具体结果见表1,65种除草剂的检出限在0.02~2.2  $\mu\text{g/kg}$ 之间,定量限在0.1~7.4  $\mu\text{g/kg}$ 之间。

#### 2.4 加标回收试验

我国食品中农药残留限量标准 GB 2763—2012《食品中农药最大残留限量》中有关除草剂的最低限量标准为20  $\mu\text{g/kg}$ ,根据目前我国的限量标准及国际上10  $\mu\text{g/kg}$ 的最低限量标准,在空白油菜样品中分别添加5、10和20  $\mu\text{g/kg}$ 三个水平的除草剂农药,按照上述提取、净化和检测步骤,每个添加水平

做5份平行样品,计算各种除草剂的平均回收率和相对标准偏差,以考察方法的准确度和精密度。结果显示,65种除草剂在5  $\mu\text{g/kg}$ 加标水平时回收率为41.1%~106.8%, $RSD$ 为0.4%~12.2%;10  $\mu\text{g/kg}$ 加标水平时回收率为41.5%~108.5%, $RSD$ 为2.2%~9.2%;20  $\mu\text{g/kg}$ 加标水平时回收率为50.5%~117.9%, $RSD$ 为2.9%~14.0%。具体结果见表1。其中,扑草灭和乙氧苯草胺的回收率相对较低,扑草灭为41.4%~59.4%,乙氧苯草胺为41.1%~50.5%。扑草灭回收率低可能与其极性较大、容易吸附有关,而乙氧苯草胺可能与沸点较高、响应相对较低有关。经多次重复试验二者的回收率基本稳定,因此在进行定量时,为保证结果的准确性,可以以回收率对检测结果进行校正。

#### 2.5 蔬菜样品检测

采用已建立的方法对从农贸市场购买的9份蔬菜样品(3份土豆、3份油菜、2份白菜、1份菠菜)进行检测,其中1份白菜样品中检出氟乐灵,含量为2.0  $\mu\text{g/kg}$ 。