

卜媛媛, 胡珀, 尹戈, 等. 在线凝胶色谱-气相色谱-串联质谱法检测稻虾种养水环境中4种酰胺类除草剂残留量[J]. 环境化学, 2022, 41(9): 3115-3117.

BU Yuanyuan, HU Po, YIN Ge, et al. On-line gel chromatography-gas chromatography-tandem mass spectrometry for the determination of four amide herbicides residues in rice-crayfish integrated culture system[J]. Environmental Chemistry, 2022, 41 (9): 3115-3117.

在线凝胶色谱-气相色谱-串联质谱法检测稻虾种养水环境中 4种酰胺类除草剂残留量*

卜媛媛¹ 胡珀¹ 尹戈² 范军² 金华^{1**}

(1. 淮南市食品药品检验所, 淮安, 223300; 2. 岛津企业管理(中国)有限公司上海分公司, 上海, 200233)

摘要 本文建立了4种酰胺类除草剂残留的GPC-GC-MS/MS检测方法. 采集稻虾综合种养系统中的水样, 采用乙酸乙酯进行萃取, 萃取液浓缩富集后, 通过GPC-GC-MS/MS联用仪在线净化和检测, 加入外环氧七氯使用内标法定量分析. 结果表明, 甲草胺、乙草胺、丙草胺和丁草胺等4种化合物在20—300 ng·mL⁻¹浓度范围内线性关系良好, 相关系数>0.99; 4种酰胺类除草剂的回收率范围为79%—102%, 精密度范围为2.5%—6.1%. 该方法操作简单, 快速准确, 能有效去除基质干扰, 提高分析灵敏度, 满足4种酰胺类除草剂残留定量分析的要求.

关键词 稻虾综合种养, 水样, 农药残留, GPC-GC-MS/MS, 酰胺类除草剂.

On-line gel chromatography-gas chromatography-tandem mass spectrometry for the determination of four amide herbicides residues in rice-crayfish integrated culture system

BU Yuanyuan¹ HU Po¹ YIN Ge² FAN Jun² JIN Hua^{1**}

(1. Huaian Institute for Food and Drug Control, Huaian, 223300, China; 2. Shimadzu China Co. Ltd, Shanghai, 200233, China)

Abstract In the present study, a method was established for the residue determination of four amide herbicides by gel permeation chromatography-gas chromatography-tandem mass spectrometry (GPC-GC-MS/MS). Water samples from rice-crayfish integrated culture systems were extracted with ethyl acetate and then concentrated for online purification and detection by GPC-GC-MS/MS. Heptachloro epoxide (exo) was spiked as internal standard method for quantitative analysis. The results showed that the correlation coefficients of alachlor, acetochlor, pretilachlor and butachlor were over 0.99 in the concentration range of 20—300 ng·mL⁻¹. The recoveries of the four amide herbicides were 79%—102%, with RSD in the range from 2.5% to 6.1%. The results indicated that this method was easy, fast and accurate and could effectively avoid the interference and improve analytical sensitivity, which could meet the residue determination requirements of four amide herbicides.

Keywords rice-crayfish integrated culture, water samples, pesticide residue, gel permeation chromatography-gas chromatography-tandem mass spectrometry, amide herbicide.

随着小龙虾食品越来越受欢迎, 稻虾种养产业发展迅速, 种养系统中农药残留对养殖产品的影响逐渐受到关注.

* 江苏省市场监督管理局科技计划项目(KJ207547)资助.

** 通信联系人 Corresponding author, E-mail: 79010420@qq.com

甲草胺、乙草胺、丙草胺和丁草胺等 4 种酰胺类农药是水稻上已登记的除草剂类常用农药, 这些物质在自然环境下能长期存在并蓄积于生物体内, 且均具有较强毒性, 可对生物和人体健康产生危害^[1], 有必要针对稻虾种养水环境中的酰胺类农药建立多残留检测方法. 国内目前关于酰胺类除草剂农药残留的检测方法较多^[2-5], 马杰等^[6]建立了固相萃-气相色谱-质谱联用法测定酰胺类除草剂, 但该方法操作较为繁琐. 本研究通过优化样品前处理方法, 采用简洁高效的液液萃取法提取样品, 提取溶液经过在线凝胶色谱净化后直接注入 GC-MS/MS 联用仪进行分析, 建立了水环境中 4 种酰胺类除草剂的检测方法. 该方法灵敏度高, 精密度好, 能满足环境中 4 种酰胺类除草剂定量分析要求.

1 实验部分 (Experiment section)

1.1 仪器设备、色谱柱与试剂

凝胶色谱-气相色谱-三重四极杆质谱联用仪 (GPC-GCMS-TQ8050, 岛津公司); CLNpak EV-200 (2.0 mm×150 mm) 凝胶色谱柱, Shodex 公司; HP-5MS (30 m, 0.250 mm×0.25 μm) 气相色谱柱, Agilent 公司; 外环氧七氯 (内标)、甲草胺、乙草胺、丙草胺、丁草胺标准溶液, 浓度均为 100 μg·mL⁻¹, First Standard 公司; 色谱纯乙酸乙酯, Merck 公司; 分析纯无水硫酸钠, 国药集团.

1.2 仪器条件

GPC 条件 流速: A 泵 0.1 mL·min⁻¹, B 泵 0.1 mL·min⁻¹; 进样体积: 10 μL; 柱温 40 °C; 流出液收集时间 3.3—5.3 min.

GC 条件 载气: 氮气; 碰撞气: 氩气; 柱温程序: 82 °C (5 min)—8 °C·min⁻¹—300 °C (7.75 min); PTV 进样口温度程序: 120 °C (5 min)—100 °C·min⁻¹—250 °C (33.7 min); 不分流进样时间 7 min.

质谱条件 溶剂切割时间 9 min; 接口温度 300 °C; EI 源; 离子源温度 200 °C; 电子轰击能 70 eV; 采集方式 MRM.

1.3 样品处理方法

取供试品 100 mL 置 250 mL 分液漏斗中, 加入外环氧七氯溶液 5 μL, 用乙酸乙酯 20 mL+20 mL 提取两次, 合并乙酸乙酯层, 乙酸乙酯层经无水硫酸钠脱水, 用乙酸乙酯清洗无水硫酸钠 3 次, 每次 10 mL, 合并乙酸乙酯液, 40 °C 回收溶剂至 0.5 mL, 加乙酸乙酯定容至 1 mL, 涡旋混匀, 微孔滤膜 (0.22 μm) 滤过, 取续滤液, 即得.

2 结果与讨论 (Results and discussion)

2.1 特征离子选择

通过全扫描得到各化合物质谱图, 选择离子丰度大、干扰小的离子作为母离子, 通过产物离子扫描得到二级质谱图, 选择离子丰度大、干扰小的离子作为子离子, 优化碰撞电压. 4 种酰胺类农药和内标物质保留时间、定量定性离子对、碰撞电压和离子丰度比见表 1.

表 1 4 种酰胺类农药和内标物质质谱采集参数

Table 1 Parameters of mass spectrometer for four amide herbicides and internal standard

| 组分名称 | 保留时间/min | 定量离子 | | | 定性离子 | | |
|-------|----------|---------------|----|-----|---------------|----|-------|
| | | m/z | CE | 比率 | m/z | CE | 比率 |
| 乙草胺 | 20.781 | 174.10>146.10 | 12 | 100 | 223.10>132.10 | 22 | 93.86 |
| 甲草胺 | 21.015 | 188.10>160.10 | 10 | 100 | 188.10>132.10 | 18 | 65.21 |
| 外环氧七氯 | 23.13 | 352.80>262.90 | 15 | 100 | 354.80>264.90 | 15 | 63.48 |
| 丁草胺 | 23.954 | 176.10>147.10 | 14 | 100 | 188.10>160.10 | 12 | 70.18 |
| 丙草胺 | 24.467 | 262.10>202.10 | 10 | 100 | 238.10>162.10 | 10 | 28.24 |

2.2 样品处理条件优化

2.2.1 提取溶剂优化

选取二氯甲烷、环己烷、石油醚 60—90 °C、乙酸乙酯、正己烷 5 种溶剂提取样品, 上机分析. 取农药标准溶液, 用乙酸乙酯稀释成 200 ng·mL⁻¹ 混合标准溶液, 以峰面积外按标法计算提取效率 (以回收率表示). 结果表明, 乙酸乙酯对酰胺类农药提取效率优于其他 4 种溶剂.

2.2.2 溶剂体积优化

选取乙酸乙酯作为提取溶剂, 取供试品 4 份, 分别用 20 mL 提取 1 次、2 次、3 次和 4 次, 上机分析. 选取如 2.2.1 节 200 ng·mL⁻¹ 农药混合标准溶液作为标准品溶液, 以峰面积外按标法计算提取效率 (以回收率表示), 以提取溶剂体积为横坐标, 平均回收率为纵坐标, 绘制趋势图. 结果表明, 提取效率随溶剂体积增加而升高, 溶剂体积在 0—40 mL 之间, 提取效率变化明显, 溶剂体积 40 mL 时, 平均回收率为 103%, 溶剂体积超过 40 mL 后, 提取效率增加放缓. 从提取效率优先, 兼顾操作简便和环境友好的角度考虑, 选择 40 mL 作为提取溶剂体积.

2.3 基质效应考察

基质效应 (Mi) 是指从样品中与目标物同时提取出来的共萃物在分析时对目标物分析产生的影响和干扰. $Mi/\% = (\text{基质溶液中农药峰面积}/\text{纯溶液中农药峰面积} - 1) \times 100$, $|Mi| < 20\%$, 为弱基质效应; $20\% \leq |Mi| \leq 50\%$, 为中等程度基质效应; $|Mi| > 50\%$, 为强基质效应. 用空白基质溶液和乙酸乙酯分别配制 200 ng·mL⁻¹ 混合标准溶液, 按

上述公式进行基质效应评价,甲草胺、乙草胺、丙草胺、丁草胺 Mi 值分别为 4%、10%、13%、-29%。其中甲草胺、乙草胺、丙草胺表现为基质增强效应,丁草胺表现为基质减弱效应。甲草胺、乙草胺、丙草胺表现为弱基质效应,丁草胺表现为中等程度基质效应。为消除基质效应和提取效率影响,本次研究方法验证采用的标准溶液均以基质前加标的方式制备。

2.4 专属性试验

取阴性样品 100 mL,不加内标,按样品制备方法提取,同时制备基质加标样品,上机分析。样品基质对各化合物均无干扰,说明该方法可以有效消除基质干扰,专属性符合定量分析要求。

2.5 方法的线性及定量限

4种酰胺类农药基质标准溶液范围为 20—300 ng·mL⁻¹、内标浓度为 500 ng·mL⁻¹时,以相对内标化合物的浓度比为横坐标、峰面积比为纵坐标,拟合标准曲线,计算回归系数。结果见表 2,各化合物标准曲线相关系数均>0.99,表明基质标准溶液在 20—300 ng·mL⁻¹范围内呈良好线性关系。

表 2 方法学结果

Table 2 Summary of methodology results

| 组分名称 | 标曲线性方程 | 相关系数 | 定量限/ ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) | 回收率/% | | 精密度/% | |
|------|------------------------|--------|---|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| | | | | 添加0.0002 mg·L ⁻¹ | 添加0.0010 mg·L ⁻¹ | 添加0.0030 mg·L ⁻¹ | 添加0.0020 mg·L ⁻¹ |
| 乙草胺 | $Y = 2.2436X + 0.0679$ | 0.9998 | 0.03 | 87 | 89 | 93 | 2.5 |
| 甲草胺 | $Y = 3.7792X + 0.0671$ | 0.9999 | 0.03 | 82 | 89 | 92 | 4.2 |
| 丁草胺 | $Y = 1.4541X + 0.1860$ | 0.9950 | 0.15 | 79 | 92 | 95 | 6.1 |
| 丙草胺 | $Y = 2.4819X + 0.0517$ | 0.9998 | 0.01 | 102 | 92 | 95 | 3.6 |

2.6 回收率与精密度

取供试品 100 mL,精密加入 200 ng·mL⁻¹农药混合标准溶液 0.1、0.5、1.5 mL,按样品制备方法提取,上机分析,添加水平 0.0002、0.0010、0.0030 mg·L⁻¹,内标法计算回收率;取供试品 100 mL×6 份,加入 2.2.1 项下 200 ng·mL⁻¹农药混合标准溶液 1.0 mL,添加水平 0.0020 mg·L⁻¹,按样品制备方法提取,上机分析,内标法计算精密度,结果见表 2。0.0002、0.0010、0.0030 mg·mL⁻¹添加水平的回收率范围分别为 79%—102%、89%—92%、92%—95%;0.0020 mg·L⁻¹添加水平的精密度范围为 2.5%—6.1%,满足定量分析要求。

3 结论(Conclusion)

本次研究建立了稻虾种养水环境中丁草胺等 4 种酰胺类农药残留的 GPC-GC-MS/MS 检测方法。采用乙酸乙酯作为溶剂,液液萃取法提取目标物,样品经在线 GPC 净化后直接进行 GC-MS/MS 分析,简化操作步骤的同时有效降低基质干扰对分析的影响,采用基质加标方式制备标准溶液、使用内标法定量,有效消除基质效应和操作误差,提高分析结果准确度。各农药的回归系数、回收率、精密度、灵敏度均达到定量分析要求。该方法灵敏度高、专属性强,是水环境中农药检测的一种有效手段。

参考文献(References)

- [1] 李明月. 苯胺类化合物气相及水体中降解机理的理论研究[D]. 济南: 山东大学, 2015.
- [2] 乔丹, 张华威, 董晓晓, 等. 海产品中除草剂残留检测及安全评价研究进展[J]. 中国渔业质量与标准, 2016, 6(2): 31-37.
- [3] 李建勋, 孙梦园, 胡雪艳, 等. 顶空固相萃取结合气相色谱-三重四极杆质谱法快速测定茶叶中 11 种酰胺类除草剂残留[J]. 分析测试学报, 2017, 36(11): 1339-1345.
- [4] 孙日晗, 王涛, 王晓, 等. 分子印迹磁固相萃取/气相色谱法分析环境水样中 5 种酰胺类除草剂残留[J]. 分析测试学报, 2017, 36(6): 750-755.
- [5] 朱富强, 吴树栋, 韩岩君, 等. 快速固相萃取/超高效液相色谱-串联质谱法测定水产品中 25 种磺酰胺类及磺酰胺类除草剂残留[J]. 分析测试学报, 2021, 40(9): 1279-1285.
- [6] 马杰, 石矛, 王辉龙, 等. GC-MS 测定生活饮用水及水源水中 6 种酰胺类除草剂[J]. 环境卫生学杂志, 2021, 11(6): 537-541.