

基质固相分散萃取-高效液相色谱串联质谱法 测定土壤中残留的苯脲类除草剂

吴飞¹, 张占恩^{1,3*}, 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4种化工合成的苯脲类除草剂(异丙隆、绿麦隆、利谷隆、敌草隆)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:0.5 g土壤样品、1.5 g弗罗里硅土作为分散剂与直径为8 mm的小钢珠一起球磨8 min后,转移至空的玻璃萃取小柱,用12 mL二氯甲烷-甲醇(8:2, V:V)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。在最佳实验条件下,4种苯脲类除草剂在5~100 μg/kg范围内线性良好,相关系数 R^2 在0.993 6~0.999 0。土壤样品的平均加标回收率在71.5%~102.4%,相对标准偏差为4.5%~9.2%。方法的检出限(S/N=3)在0.14~0.56 μg/kg。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;苯脲类除草剂;土壤

中图分类号:X833

文献标志码:A

文章编号:0253-4320(2016)05-0189-04

DOI:10.16606/j.cnki.issn.0253-4320.2016.05.048

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

WU Fei¹, ZHANG Zhan-en^{1,3*}, ZHANG Lei²

- (1. Department of Environmental Science and Engineering, Suzhou University of Science and Technology, Suzhou 215009, China;
2. Jiangsu Key Laboratory of Environmental Science and Engineering, Suzhou University of Science and Technology, Suzhou 215009, China;
3. Jiangsu Collaborative Innovation Center of Technology and Material of Water Treatment, Suzhou 215009, China)

Abstract: An analytical method for simultaneous determination of four chemically synthesized urea herbicides (isoproturon, chlorotoluron, linuron and diuron) is established by matrix solid-phase dispersion extraction (MSPD) with high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (HPLC-MS/MS). The dispersion extraction conditions are optimized based on the ball milled matrix solid-phase. The optimal conditions are as follows: 0.5 g of Soil and 1.5 g of florisil are grinded with 8 mm of small steel balls for 8 minutes and then used as dispersants in the glass extraction column. 12 mL of Mixed solvent consisting of 8:2 volumetric ratio of chloromethane and methanol as eluent. The extract is concentrated to 0.6 mL with methanol, filtrated by 0.22 μm of membrane and then moved to the automatic sample bottle. The measurement is performed under selective reaction monitoring mode (SRM) by using Syncronis C18 reverse phase column separation method and methanol (A) - 1% formic acid solution (B) for the mobile phase gradient elution. Under the optimal condition, good linearity of four urea herbicides (chlorotoluron, isoproturon, diuron and linuron) can be achieved when the concentrations of herbicides are in the range of 5 to 100 μg/kg. The correlation coefficients are ranged from 0.993 6 to 0.999 0. The average recoveries at two spiked levels are 71.5% - 102.4% with RSD less than 9.2%. The limits of detection for four urea herbicides are in the range of 0.14 - 0.56 μg. It is a simple and efficient method with less interference and high recovery rate, which can meet the analytical requirements of urea herbicides in soil.

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

世界各国对农药的生产与使用逐年上升,目前,化工合成除草剂被广泛用于农业生产中,苯脲类除草剂作为一种十分重要的除草剂,在田间施用后能持久稳固于环境中。这不仅污染了土壤和地表水,而且被污染的水用来灌溉农田又污染了农作物从而对人类的健康造成极大的威胁^[1]。农作物、土壤和水中残留苯脲类除草剂的检测方法主要有气相色谱(GC)^[2]、液相色谱(LC)^[3-4]、薄层色谱(TLC)^[5]、

免疫^[6]等方法。GC方法操作简便、检测快速,但对于大分子化合物必须进行衍生化才能进行分析。LC法是开放性实验过程,受环境因素影响较大,实验重复性有待提高。TLC法对生物高分子的分离效果不甚理想。笔者采用的高效液相色谱串联质谱法(HPLC-MS/MS)^[7]在最佳仪器条件下可以快速检测土壤中残留的苯脲类除草剂。

由于苯脲类除草剂在土壤中的残留量极低且样

收稿日期:2015-10-17

作者简介:吴飞(1988-),男,硕士生,研究方向为环境检测分析技术,1244592068@qq.com;张占恩(1963-),教授,博士,研究方向为环境监测,通讯联系人,zhanenzhang@126.com。

品基质复杂,因此样品前处理是苯脲类除草剂残留分析中至关重要的一步^[8]。在处理水样时常采用固相萃取(SPE)^[9],这种前处理耗时耗力。在处理土壤样品时,使用液相微萃取的方法^[10-11]。笔者采用的样品前处理方法为基质固相分散萃取(MSPD),它是由 Baker 等^[12]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 调节和样品转移等操作步骤,避免了样品的损失^[13]。集提取与净化于一体,大大提高了前处理效率^[14]。因此,笔者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苯脲类除草剂的分析方法。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

Ultimate 3000 高效液相色谱仪,美国 Thermo 公司生产;TSQ Quantum Ultra EMR 三重四极杆质谱检测器,美国 Thermo 公司生产;DC-12 型氮吹仪,上海安谱公司生产;KQ-500KDB 超声波清洗仪,江苏昆山超声波有限公司生产;HY-2 调速多用振荡器,苏州威尔实验用品有限公司生产;Milli-Q Academic 纯水器,美国 Millipore 公司生产。

标准品异丙隆(质量分数为 97.8%)、绿麦隆(质量分数为纯度 99.2%)、利谷隆(质量分数为 96.7%)、敌草隆(质量分数为 97.0%),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 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 0.500 g 土壤样品和 1.500 g 弗罗里硅土分散剂,一起装入直径为 8 cm、容积约为 270 mL 的金属制的球罐中,向金属球罐中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)的振荡器上振荡 8 min,将样品转移至空的玻璃萃取小柱后,用 12 mL 二氯甲烷-甲醇(体积比为 8:2)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 Synchronis C₁₈ 反相色谱柱(100 mm × 2.1 mm, 1.7 μm, USA);色谱柱流速为 0.4 mL/min;柱温为 40℃;进样量为 2 μL;流动相为甲醇(A)-1%甲酸溶液(B),采用等度洗脱:0.0 ~ 4.0 min, 60% A ~ 40% B。

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 2 300 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℃。4 种苯脲类除草剂 SRM 监测模式参数见表 1。

表 1 4 种苯脲类除草剂 SRM 检测模式参

名称	保留时间	正的质子化离子	监测离子对(<i>m/z</i>)	碰撞能量/V
绿麦隆	1.83	213.095	72.329, 77.336 ^① , 140.145	17, 41, 23
异丙隆	2.10	207.148	72.343, 91.299 ^① , 165.196	17, 33, 10
敌草隆	2.84	233.027	72.330, 133.046 ^① , 160.056	18, 37, 23
利谷隆	3.31	249.021	125.138, 133.093, 153.116 ^① 160.060, 182.092	32, 31, 29 15, 12

注:①定量离子。

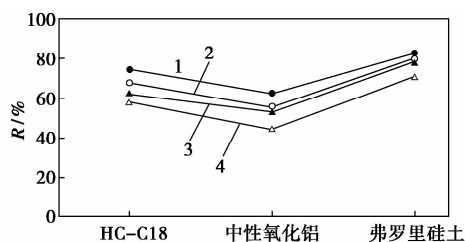
2 结果与讨论

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,配制成质量分数为 100 μg/g 的苯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 空白土壤中,配制成质量浓度为 50 μg/kg 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 1.5 g HC-C₁₈、中性氧化铝以及弗罗里硅土对目标物的提取效果,结果如图 1 所示。由图 1 可以看出,由于 4 种苯脲类除草剂母体结构含有氨基且分子结构不对称,因此属于弱极性酸性物质。HC-C₁₈ 属于非极性固相吸附剂,对目标物的回收率在 57.6% ~ 74.2%。中性氧化铝的提取效果较差,这是由于中性氧化铝死吸附强,并且只对一些特定类化合物分离效果好。弗罗里硅土为极性弱碱性萃取剂,容易使土壤样品中的苯脲类除草剂吸附至弗罗里硅土的表面。弗罗里硅土作为分散剂时,4 种目标物的回收率均在 70% 以上。因此选择弗罗里硅土作分散剂。

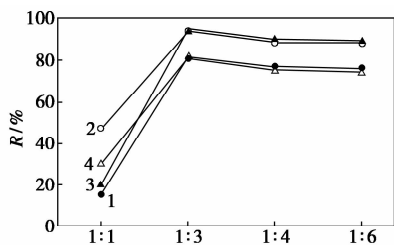


1—绿麦隆;2—利谷隆;3—异丙隆;4—敌草隆

图1 不同固相吸附剂对目标物回收率的影响

2.1.2 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、1:3、1:4、1:6时对目标物的提取效果,结果如图2所示。由图2可以看出,分散剂用量少时,目标物回收率较低。当实验样品与弗罗里硅土的质量比为1:3时,绿麦隆和异丙隆的回收率超过90%,敌草隆和利谷隆的回收率也达到80%以上。当样品与分散剂的质量比达到1:4时,目标物的回收率均在下降,这是由于样品中的其他物质一同与目标物被吸附和洗脱下来。继续增大二者的比例,4种苯胺类除草剂的回收率基本保持不变。所以选择样品与分散剂的质量比为1:3。



1—敌草隆;2—异丙隆;3—绿麦隆;4—利谷隆

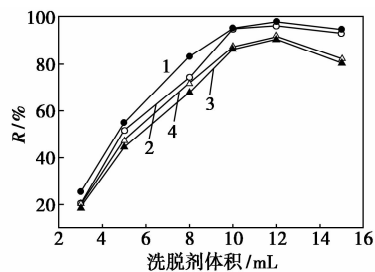
图2 基质固相分散萃取中样品与分散剂质量比的选择

2.1.3 洗脱剂及其体积的选择

分别考察了乙腈、乙酸乙酯、丙酮、二氯甲烷-甲醇(体积比为8:2)、乙腈-甲醇(体积比为1:1)5种中极性大小不同的溶剂的洗脱效果。测定结果表明:乙腈、乙酸乙酯、丙酮、乙腈-甲醇(体积比为1:1)这4种洗脱剂的洗脱效果相当,但体积比为8:2的二氯甲烷-甲醇溶剂作为洗脱剂时,目标物的回收率均在82%以上。所以选择二氯甲烷-甲醇(体积比为8:2)作为洗脱剂。

分别用不同体积的二氯甲烷-甲醇(体积比为8:2)进行洗脱效果对比,实验结果如图3所示。由图3可以看出,随着洗脱剂用量增大,目标物回收率也在提高,当洗脱剂的体积增加到12 mL时,目标物

的回收率达到最大,继续增加洗脱剂的体积,4种苯胺类除草剂的回收率均有所下降。这是因为洗脱剂将土壤样品中的其他杂质洗脱下来。因此,为了减少氮吹的时间,同时减少MSPD中试剂的用量,选用12 mL二氯甲烷-甲醇(体积比为8:2)作为洗脱剂。



1—绿麦隆;2—异丙隆;3—敌草隆;4—利谷隆

图3 洗脱剂用量对目标物回收率的影响

2.1.4 球磨条件的选择

将样品与小钢珠置于金属制的球罐中,用半自动化球磨方式替代手工研磨,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:采用球磨代替手工研磨,分别考察了球磨时间为3、6、8、10、12 min对目标物提取的影响。研磨时间为3 min时,绿麦隆的回收率只有36.5%,其他3种苯胺类除草剂的回收率也只有50.1%~70.4%。随着球磨时间的增加,目标物的回收率有了明显提高,当球磨时间达到8 min时,4种苯胺类除草剂的回收率达到最大,进一步增加球磨时间,目标物的回收率基本保持不变,因此选择研磨时间为8 min。

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(40颗)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,4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(直径为8 mm),不同数量的小钢珠对萃取效果的影响。结果显示,随着小钢珠数量的增加,研磨力度也在增大,在加到40颗小钢珠时,4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。这是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

40 颗合适。

2.2 线性范围、相关系数和检出限

配制质量分数分别为 5、10、20、50、100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 的 4 种苯脲类除草剂(异丙隆、绿麦隆、利谷隆、敌草隆)标准土壤样品,在前述实验详细优化了 MSPD 条件的前提下,以加标土壤质量浓度($x, \mu\text{g}/\text{kg}$),与峰面积(y)进行线性拟合,绘制工作曲线。最低检出限以仪器 3 倍信噪比计算得出,具体结果如表 2 所示。

表 2 方法的线性方程、线性范围、相关系数及检出限

名称	线性方程	线性范围/ ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	相关系数 (R^2)	检出限/ ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)
绿麦隆	$y = 3.9 \times 10^5 x - 93277$	5 ~ 100	0.9972	0.29
异丙隆	$y = 9.2 \times 10^5 x + 2.1 \times 10^5$	5 ~ 100	0.9958	0.18
敌草隆	$y = 1.0 \times 10^5 x - 40509$	5 ~ 100	0.9990	0.49
利谷隆	$y = 1.1 \times 10^5 x - 75108$	5 ~ 100	0.9936	0.56

2.3 精密度、稳定性实验及实际样品测定

部分苯脲类除草剂由于外界因素(如光照)的影响发生降解,对 4 种目标物进行检测时造成干扰。因此,为了准确测定土壤中 4 种苯脲类除草剂,将采集的土壤样品分成 5 份,配制质量分数分别为 5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 和 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 的加标土壤样品,每隔 1 个星期测定 1 份,计算日间重复性实验中 4 种苯脲类除草剂的回收率和相对标准偏差,结果如表 3 所示。由表 3 可知,苯脲类除草剂的加标回收率在 71.5% ~ 102.4%,相对标准偏差在 4.5% ~ 9.2% 之间。说明待测的 4 种苯脲类除草剂在土壤中未发生降解,性质稳定。实际土壤样品中 4 种苯脲类除草剂均未检测出。

表 3 4 种苯脲类除草剂加标回收率及相对标准偏差

周期	加标水平 ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	绿麦隆		异丙隆		敌草隆		利谷隆	
		回收率/%	RSD/%	回收率/%	RSD/%	回收率/%	RSD/%	回收率/%	RSD/%
第一周	5	92.4	5.8	100.2	6.8	101.2	5.6	90.6	7.2
	100	94.6	6.0	93.7	7.9	92.3	6.1	88.4	6.9
第二周	5	93.1	4.5	94.6	6.5	100.4	5.4	84.6	5.9
	100	84.6	6.1	88.6	4.9	88.7	5.0	78.9	6.1
第三周	5	89.2	5.1	94.2	7.8	102.4	5.2	85.6	8.2
	100	94.8	7.3	89.7	7.6	89.6	7.9	78.4	8.9
第四周	5	87.6	5.6	78.6	7.9	83.6	5.9	84.5	9.1
	100	84.1	5.9	72.4	8.3	81.3	4.8	74.9	7.6
第五周	5	79.6	6.3	82.9	6.8	78.6	5.7	85.6	6.8
	100	80.4	7.5	90.5	9.0	71.5	5.1	76.9	9.2

3 结论

采用基于球磨的半自动化基质固相分散萃取,这种样品前处理方法与传统的固相萃取方法相比,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。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苯脲类除草剂的分析方法线性范围宽,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] 李欢,史龙梅,周建科. 微萃取瓶富集! 高效液相色谱法测定茶饮料中脲类除草剂[J]. 食品与发酵科技, 2013, 49(5): 78-81.
- [2] 张洪玲,张品,王莹,等. 谷物中 6 种除草剂的气相色谱检测方法[J]. 现代农业科技, 2006, (2): 24-25.
- [3] 黄路. 磺酰脲类化合物的高效液相色谱分析[J]. 湖南化工, 2000, 30(5): 63-64.
- [4] 胡玉玲,常蓓蓓,罗学军,等. 液相微萃取-高效液相色谱法分析葡萄汁中多酚类化合物[J]. 分析试验室, 2009, 28(8): 22-25.
- [5] Thin-layer chromatography (TLC) as pilot technique for HPLC. Utilization of retention database (RF) vs. eluent composition of pesticides[J]. Chromatographia, 2001, 56(5): 379-381.
- [6] 张存政,杨春龙,刘贤进,等. 联酶免疫法检测新型除草剂双甲胺草磷[R]分析化学, 2011, 39(2): 225-230.
- [7] 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.
- [8] 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[J]. 分析科学学报, 2010, 26(5): 517-520.
- [9] 马丽丽,郭昌胜,胡伟,等固相萃取-高效液相色谱-串联质谱法同时测定土壤中氟喹诺酮、四环素和磺胺类抗生素[J]. 分析化学, 2010, 38(1): 21-26.
- [10] 杨振华,臧广鹏. 我国基本农田土壤污染源分析[J]. 现代农业科技, 2012, (9): 297-299.
- [11] 王民生. 邻苯二甲酸酯(塑化剂)的毒性及对人体健康的危害[J]. 江苏预防医学, 2011, 22(4): 68-70.
- [12] Baker S A. Matrix solid-phase dispersion[J]. Journal of Chromatography A, 2000, 885(1-2): 115-127.
- [13] 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.
- [14] 成昊,张丽君,张磊,等. 基质固相分散萃取 U 分散液相微萃取-气相色谱 8 质谱联用法测定土壤中的邻苯二甲酸酯[J]. 分析试验室, 2015, 34(5): 574-578. ■