

高效液相色谱-质谱法检测水稻中吡嘧磺隆残留量方法研究

陈 鸽, 金茂俊*, 杜鹏飞, 张 婵, 邵 华,
金 芬, 余永新, 王珊珊, 郑鹭飞, 王 静

(中国农业科学院农业质量标准与检测技术研究所/农业部农产品质量安全
重点实验室, 北京 100081)

Determination of Pyrazosulfuron-ethyl Residues in Rice by High Performance Liquid Chromatography-tandem Mass Spectrometry

Chen Ge, Jin Maojun, Du Pengfei, Zhang Chan, Shao Hua, Jin Fen, She Yongxin, Wang Shanshan, Zheng Lufei, Wang Jing (Key Laboratory for Agro-Products Quality and Safety, Institute of Quality Standards & Testing Technology for Agro-Products, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China)

Abstract: A rapid analytical method to detect Pyrazosulfuron-ethyl residue in paddy soil, rice plant, rice husk and brown rice was developed using liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS), and the sensitivity, accuracy and reliability of the method was explored. The sample was extracted by acetonitrile and purified by primary secondary amine (PSA) and C₁₈, and then separated on a reversed phase C₁₈ column using an isocratic elution program of 0.2% aqueous formic acid and acetonitrile. Qualitative analysis was performed using electrospray ionization in positive mode (ESI⁺) under multiple reaction monitoring (MRM) mode. Matrix-matched calibrations were respectively used to quantify the residue concentrations. During the concentration range of 1~500 μg/g, the matrix-matched calibration curves showed good linearity with determination coefficients >0.990 7. The average recoveries of pyrazosulfuron-ethyl in different matrices were in the range of 78.4%~100.3% at spiked levels from 0.02~0.1 mg/kg, with relative standard deviations of 1.80%~14.9% (n=5). The method is simple, rapid, sensitive and accurate, which can meet the detection requirements of pyrazosulfuron-ethyl residues in soil and rice.

Key words: Pyrazosulfuron-ethyl; rice; soil; HPLC-MS/MS

摘 要: 本文采用液相色谱-质谱联用快速分析方法, 来检测吡嘧磺隆在水稻植株、土壤残留动态, 探究液相色谱-质谱的灵敏度、准确度和可靠性。本文采用QuECHERS方法进行

收稿日期: 2015-06-19

作者简介: 陈鸽, 女, 硕士, 主要从事农药残留检测工作。联系电话: 18701078760; E-mail: 1174342331@qq.com。

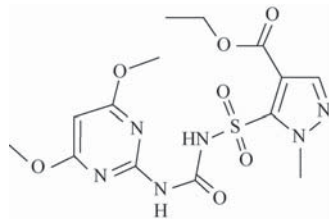
通讯简介: 金茂俊, 男, 副研究员, 主要从事有机污染物及违禁添加剂快速检测技术及理论研究。联系电话: 010-82106570; E-mail: katonking@163.com。

样品快速前处理, 样品经乙腈提取, PSA、 C_{18} 吸附剂净化, C_{18} 色谱柱分离, 0.2%甲酸水:乙腈等度洗脱, 质谱采用电喷雾正离子 (ESI^+) 模式电离, 多反应离子监测模式定性分析, 基质标匹配外标法定量。在0.02~0.1mg/kg浓度范围内, 在不同基质中的吡嘧磺隆的线性相关系数均>0.990 7。在3个浓度添加水平范围内, 土壤、水稻植株、稻壳和糙米样品中吡嘧磺隆的平均回收率在78.4%~100.3%之间, 相对偏差为1.80%~14.9%。该方法简单、快速、灵敏度高、准确度高, 能够满足水稻及土壤中吡嘧磺隆残留量的检测要求。

关键词: 吡嘧磺隆; 水稻; 土壤; 高效液相色谱-质谱联用法

中图分类号: S482.4; O657.7⁺2; S481⁺.8 **文献标识码:** A **文章编号:** 1002-5480 (2015)10-22-06

吡嘧磺隆 (Pyrazosulfuron) 属于磺酰脲类除草剂, 化学名为5-(4,6-二甲氧基嘧啶基)-2-氨基甲酰氨基磺-1-甲基吡唑-4-羧酸 (乙酯), 商品名为革克星、水星、韩乐星, 化学结构式为:



吡嘧磺隆以其高效、低毒等特性得到广泛应用^[1], 用于防除一年生和多年生阔叶杂草和莎草科杂草, 如异性莎草、鸭舌草、水芹、野慈姑等。尽管磺酰脲类除草剂的使用量低, 毒性小, 在土壤环境中不稳定易降解, 但由于长期大量的使用, 其对环境的慢性残留药害问题开始显现出来。同时非水环境的磺酰脲类农药还会通过其他各种途径进入到水体环境中, 从而影响与水密切相关的水生动植物和微生物的生长^[2]。随着该类除草剂使用范围的扩大其在农作物中的残留及对人类健康和环境造成的毒害越来越为人们所关注。药剂通过根系吸收, 传导至幼芽或叶片, 使植株生长受抑制, 颜色转为深绿, 有时脱色, 停止生长, 最后枯死^[3]。现在存在多种测定吡嘧磺隆有效成分含量的方法, 但相对保留时间长, 根据国内外相关文献报道, 就液相色谱法测定吡嘧磺隆可湿性粉剂有效成分含量的分析方法作一阐述, 简单, 准确, 省时, 效果好, 目前, 吡嘧磺隆除草剂残留的分析方法主要是高效液相^[6-7], 由于磺酰脲类除草

剂挥发性低, 具有热不稳定性, 一般不适于直接采用气相色谱分析, 必须先通过化学衍生生成易挥发和热稳定的化合物, 该方法对衍生化条件要求较高, 操作繁琐耗时、成本较高。所以液相色谱是相对比较理想的分析方法^[8]。农药检测方法的研究包括气相色谱、液相色谱和各种色质联用仪^[9-13]。开发液质联用方法检测水稻籽粒中农药多残留, 不仅可以在简化前处理过程的同时减少大量杂质峰的干扰, 而且可以利用特征离子的优势进行多残留检测, 特别是保留时间和特征离子可以双重定性, 既提高方法的检测效率又提高方法的准确性^[14]。本文采用高相液相质谱法, 经证实该方法简单, 准确, 高效。

1 材料与方法

1.1 试剂和仪器

1.1.1 试剂 吡嘧磺隆标准品: 0.1g, 购自Dr. E; 乙腈: 色谱纯, 购自Fisher公司; 无水硫酸镁: 分析纯, 上海试剂厂; 氯化钠: 分析纯, 北京化工厂; PSA分散固相萃取净化剂: 购自天津艾杰尔科技有限公司。

1.1.2 仪器 高效液相色谱系统: Agilent 1200液相色谱仪; 质谱系统: API5000; 高速匀浆机: IKA-2, 德国; 高速离心机: Thermo公司; 涡流混合器、电子天平、精密移液枪、氮吹仪以及其它实验室常用仪器设备。

1.2 分析方法

1.2.1 样品前处理

1.2.1.1 提取 称取糙米、土壤样品10.0g于50mL离心管中, 加入1g氯化钠、4g无水硫酸镁

和10mL乙腈，均质2min，5 000r/min下离心5min。称取植株样品2.0g于50mL离心管中，加入0.5g氯化钠、2g无水硫酸镁和20mL乙腈，均质2min，5 000r/min下离心5min。

称取稻壳样品1.0g于50mL离心管中，加入0.5g氯化钠、2g无水硫酸镁和10mL乙腈，均质2min，5 000r/min下离心5min。

1. 2. 1. 2 净化 经离心后，取上述糙米、土壤提取上清液各1mL于10mL离心管中，加入50mg PSA吸附剂分别进行分散固相萃取净化，均质

1min，3 000r/min下离心5min，上清液过0.22 μ m滤膜，滤液供液相色谱-质谱联用仪检测。

经离心后，取上述植株、稻壳提取上清液各1mL于10mL离心管中，加入50mg C₁₈和50mg PSA吸附剂分别进行分散固相萃取净化，均质1min，3 000r/min下离心5min，上清液过0.22 μ m滤膜，滤液供液相色谱-质谱联用仪检测。

1. 2. 2 色谱和质谱条件 液相色谱柱：Waters Xterra MS C₁₈色谱柱（150mm \times 2.1mm，5.1 μ m）；柱温：30 $^{\circ}$ C；流速：0.20mL/min；进样量：5 μ L。

表1 洗脱条件

时间 (min)	流速 (mL/min)	乙腈 (%)	0.2%甲酸水 (%)
0	0.20	50	50
8.00	0.20	50	50

离子源：电喷雾离子源ESI；扫描方式：正离子源；毛细管电压：5.5KV；离子源温度：550 $^{\circ}$ C；脱溶剂温度：450 $^{\circ}$ C；雾化气GS1：25psi；辅助加热气：60psi。

气帘气Curtain Gas：10psi；碰撞室入口电压(EP)：10V；碰撞室出口电压(CXP)：5V。吡嘧磺隆在多重反应监测(MRM)模式下参数(表2)。

表2 多重反应监测模式下吡嘧磺隆的质谱参数

名称	保留时间 (min)	定性离子对 (m/z)	定量离子对 (m/z)	滞留时间 (s)	锥孔电压 (V)	碰撞能量 (eV)
吡嘧磺隆	3.61	415.2/182.2	415.2/182.2	0.25	51	36
		415.2/139.2		0.25	51	62

注：保留时间随仪器及色谱柱的变化会有变化。

1. 2. 3 方法的回收率测定及标准曲线的绘制 在水稻植株、糙米、稻壳、土壤的空白样品中分别添加吡嘧磺隆工作液，设3个添加水平，每个水平重复5次，进行添加回收试验。

2 结果与分析

2. 1 质谱条件的选择优化 采用API 2000 三重四级杆串联质谱仪(ESI源)，通过配置的自动针泵进样系统，在多反应监测(MRM)模式下对吡嘧磺隆质谱条件进行选择优化。根据吡嘧磺隆分析物的性质，采用正离子扫描模式，结果

表明：在正离子模式下，当分析物进入一级质谱后，很容易产生稳定的[M+H]⁺分子离子峰，其中吡嘧磺隆还出现了m/z=437.4的[M+Na]⁺和m/z=453.3的[M+K]⁺峰，但437.4和453.3离子比较稳定，不易获得碎片离子，因此选择m/z=415.2为吡嘧磺隆的母离子。[M+H]⁺离子作为母离子进入二级质谱后发生断裂或重排等反应产生不同的碎片离子，吡嘧磺隆的二级质谱图，(图1)。

由图1可知，吡嘧磺隆二级质谱图的特征碎片m/z为139.2、182.2、415.2，其中m/z 182.2响

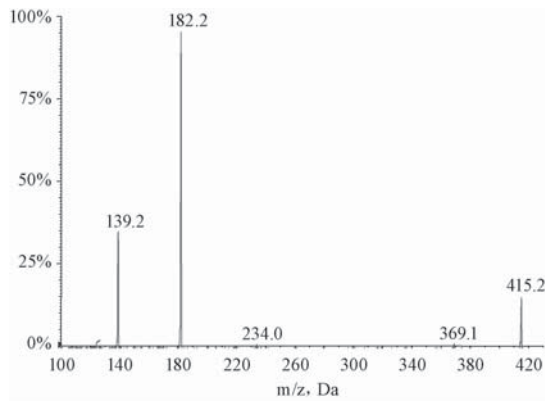


图1 吡嘧磺隆的二级质谱图

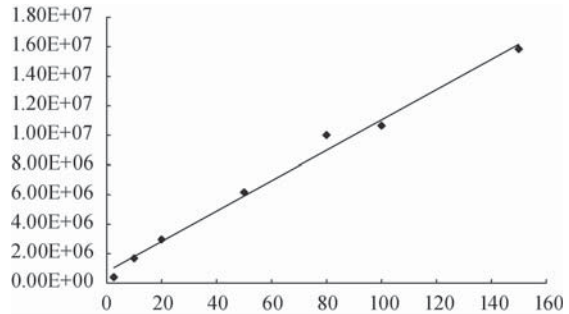
应值很高且稳定，因此，将m/z 415.2/182.2作为定量离子；对吡嘧磺隆的质谱参数进行了优化，

离子源：电喷雾离子源ESI；扫描方式：正离子源；毛细管电压：5.5KV；离子源温度：550℃；脱溶剂温度：450℃；雾化气GS1：25psi；辅助加热气：60psi；气帘气Curtain Gas：10psi；碰撞室入口电压（EP）：10V；碰撞室出口电压（CXP）：5V。

2.2 标准曲线 将1.0mg/mL的吡嘧磺隆标准溶液用乙腈稀释配得150.0、100.0、80.0、50.0、20.0、10.0、2.5ng/mL系列标准溶液，在上述液相色谱/质谱条件下进行测定，以吡嘧磺隆标准溶液浓度与监测离子峰面积作标准曲线，(表3)。标样线性方程为： $y=102\ 945x+750\ 395$ ，相关系数为： $R^2=0.990\ 7$ ；其中y为吡嘧磺隆峰面积，x为标准溶液浓度。

表3 吡嘧磺隆的标准曲线

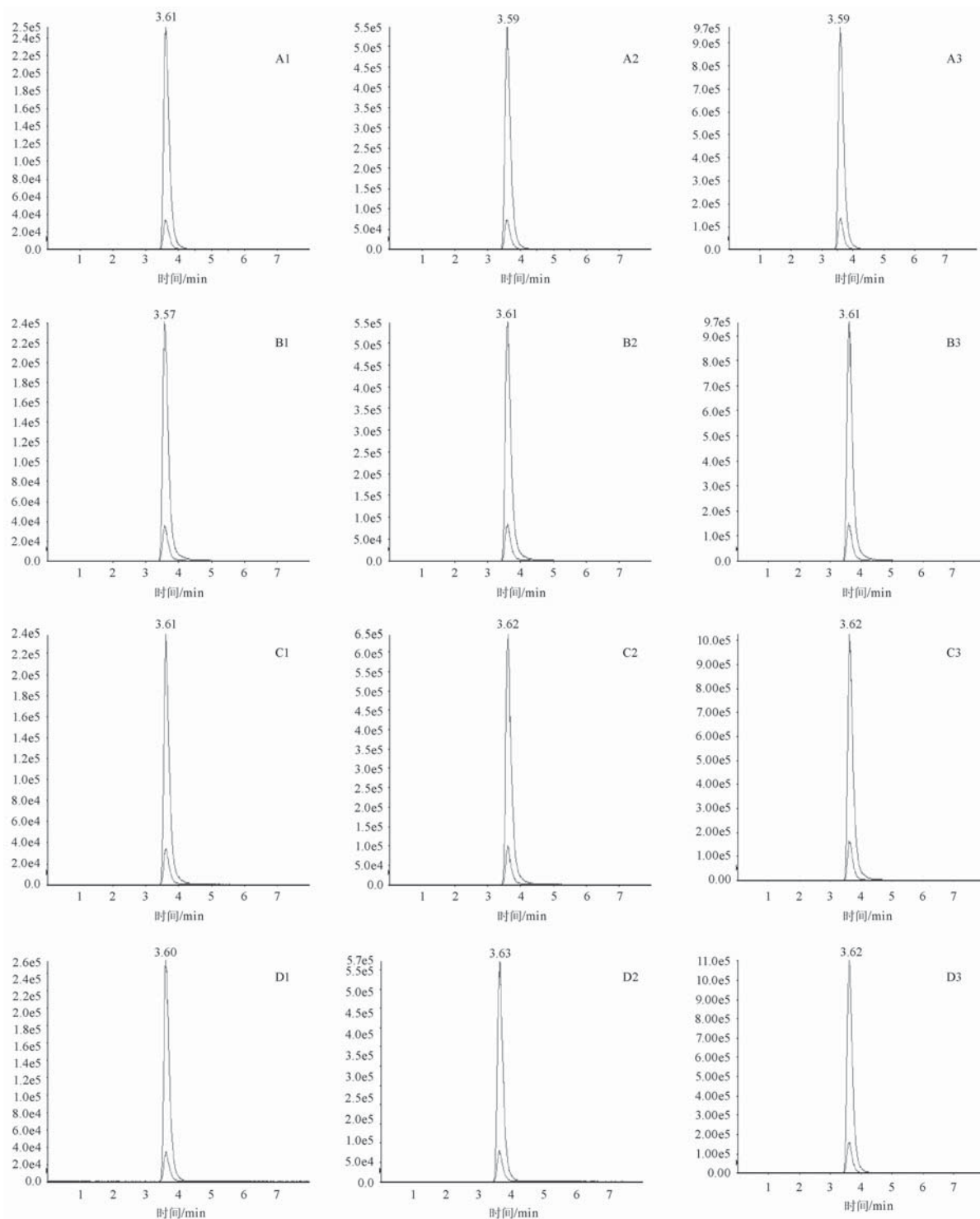
序号	浓度 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	峰面积或峰高				曲线与方程	
		1	2	3	平均值	$y=102\ 945x+750\ 395$	$R^2=0.990\ 7$
1	2.5	4.37E+05	4.26E+05	4.00E+05	4.21E+05		
2	10	1.61E+06	1.78E+06	1.59E+06	1.66E+06		
3	20	3.72E+06	2.83E+06	2.44E+06	3.00E+06		
4	50	7.51E+06	5.61E+06	5.48E+06	6.20E+06		
5	80	8.78E+06	1.26E+07	8.53E+06	9.97E+06		
6	100	1.05E+07	1.06E+07	1.08E+07	1.06E+07		
7	150	1.53E+07	1.62E+07	1.60E+07	1.12E+07		



2.3 检测限和添加回收率 取空白水稻植株、糙米、稻壳、土壤样品，添加吡嘧磺隆标准品0.02、0.05、0.1mg/kg 3个水平，重复5次，按照上述仪器条件和前处理方法测定方法的准确度和精密度，吡嘧磺隆添加质量分数为0.02~0.1mg/kg范围内，平均回收率在78.4%~100.3%之间，相对标准偏差（RSD）在3.0%~14.9%之间（色谱图2，表4），从添加回收率实验可以看出该方法对测定吡嘧磺隆的灵敏度和准确度符合农药残留准则的要求。表4 吡嘧磺隆在水稻植

株、稻壳、糙米及土壤的添加回收率和相对标准偏差数据（n=5）。

2.4 实际样品分析 本文用高效液相质谱法对天津市蓟县城关镇、黑龙江省哈尔滨市红旗乡、浙江省诸暨市江藻镇2012—2013年两年三地的稻田土壤，稻壳，糙米，植株实际样品进行测定，在所有样品中均未检测出吡嘧磺隆，说明吡嘧磺隆在稻米样品中的残留低于检出限，高效液相色谱质谱方法检测吡嘧磺隆可靠。



A1、A2、A3分别是植株中添加吡啶磷隆0.02mg/kg、0.0mg/kg、0.1mg/kg
 B1、B2、B3分别是糙米中添加吡啶磷隆0.02mg/kg、0.05mg/kg、0.1mg/kg
 C1、C2、C3分别是稻壳中添加吡啶磷隆0.02mg/kg、0.05mg/kg、0.1mg/kg
 D1、D2、D3分别是土壤中添加吡啶磷隆0.02mg/kg、0.05mg/kg、0.1mg/kg
 图2 吡啶磷隆在水稻植株、糙米、稻壳及土壤中的添加色谱图

表4 吡嘧磺隆在水稻植株、糙米、稻壳及土壤中的添加回收和相对标准偏差数据 (n=5)

样品基质	检出限 (μg/kg)	添加浓度 (mg/kg)	平均回收率 (%)	相对标准偏差 (%)
植株	20.00	0.02	97.90	5.20
		0.05	99.00	3.00
		0.10	95.40	3.30
糙米	20.00	0.02	91.90	4.20
		0.05	100.30	9.00
		0.10	96.60	3.20
稻壳	20.00	0.02	78.40	6.30
		0.05	95.90	14.90
		0.10	96.80	13.00
土壤	20.00	0.02	81.20	13.10
		0.05	96.30	6.60
		0.10	95.00	1.80

3 结论

本文采用QuEChERS方法进行样品前处理, 高效液相色谱-质谱联用检测, 建立了水稻植株、糙米、稻壳及土壤中吡嘧磺隆的高效液相色谱-质谱检测方法。并对方法的回收率、精密度及检出限进行了探讨, 简便快速、灵敏度高, 准确性好, 具有可行性, 能保证吡嘧磺隆残留快速检测要求。

参考文献

- [1] 郑杨, 李岩, 刘运凤. 噁酮·氧氟·莎稗磷37%乳油高效液相色谱分析方法研究[J]. 农药科学与管理, 2014, 35(7): 36-39.
- [2] 王姝婷. 农药多簇人工抗原的免疫特异性及多残留免疫金技术[D]. 2008.
- [3] 邓源, 郭正元. 吡嘧磺隆在稻田环境中的消解动态研究[J]. 湖南农业科学, 2013(19): 68-70.
- [4] 徐大高, 吴建辉, 罗建军. 吡嘧磺隆和苯噻草胺的高效液相色谱分析[J]. 农药, 2003. 42(3): 24.
- [5] 毛应明, 王学松, 熊建军. 固相萃取-高效液相色谱法测定紫菜中吡嘧磺隆残留量[J]. 长春理工大学学报, 2010(12): 88-89.
- [6] 李军, 隋凯, 于灵, 等. 粮谷中四唑嘧磺隆、啉嘧磺隆和氯吡嘧磺隆残留的高效液相色谱检验方法[J]. 检验检疫科学, 2005(1): 24-27.
- [7] 易丽君, 龚道新, 陈金, 等. 植烟土壤中吡嘧磺隆和苯噻草胺残留量的同时检测与分析[J]. 湖南农业科学, 2012(15): 89-91.
- [8] 郭继业, 于晓红, 崔红兵, 等. 10%吡嘧磺隆可湿性粉剂的液相色谱分析[J]. 农药科学与管理, 2006(9): 7-9.
- [9] 郭岚, 谢明勇, 鄢爱平, 等. GPC-GC-MS对食用植物油中多种类型农药残留的同步测定[J]. 分析测试学报, 2009(1): 67-71.
- [10] 汪雨, 支辛辛, 张玲金. 利用碳纳米管固相萃取气相色谱法对水中有机氯农药和多氯联苯的测定[J]. 分析测试学报, 2008(5): 493-496.
- [11] 秦珑, 杨梦祺, 王建营. 毛细管气相色谱法测定果蔬食品中21种有机磷类农药残留量[J]. 中国卫生检验杂志, 2010(1): 88-90, 96.
- [12] 贺小雨, 陈树兵, 俞雪钧, 等. 冷冻去脂-固相萃取/气相色谱-质谱法对水产品中禾草丹、溴氰菊酯及19种有机氯农药残留的测定[J]. 分析测试学报, 2009(28): 306-309.
- [13] 宋淑玲, 李重九, 马晓东, 等. 蔬菜农药多残留分析中基质共提物净化方法的研究[J]. 分析测试学报, 2008(27): 795-799.
- [14] 沈燕, 刘贤进, 徐敦明, 等. LC-MS-MS法检测小麦粉中12种农药的残留[J]. 农药, 2011(11): 831-833.