

大豆中磺酰脲类除草剂残留量的检测

祁彦¹ 张新忠² 杨强¹ 储晓刚¹

(1. 中国检验检疫科学研究院,北京 100025;2. 中国农业大学理学院,北京 100094)

摘要:为检测大豆中除草剂的残留量,建立了 RP-HPLC 和 HPLC-MS 选择离子监测(SIR)同时检测大豆中 10 种磺酰脲类除草剂残留量的方法。试样经乙腈提取,正己烷液-液分配,弗罗里硅土填充柱净化,然后采用 RP-HPLC-DAD 和 HPLC-ESI(+)-MS 测定。对 HPLC 和 LC/MS 分离条件、试样前处理条件进行了研究和优化。建立的方法简便、快速、灵敏。10 种磺酰脲类除草剂 HPLC 法测定,在 0.1~10.0 $\mu\text{g/ml}$ 范围内线性相关系数为 0.999 6~0.999 7,在 0.05~2.00 mg/kg 浓度范围之间,加标回收率均在 69.8 %~100.7 %,其多次测定的 RSD 在 1.9 %~10.4 %之间,最低检出限均为 20 $\mu\text{g/kg}$ 。LC-MS 法测定在 0.025~1.0 $\mu\text{g/ml}$ 范围内线性相关系数为 0.999 5~0.999 8,在 0.02~0.1 mg/kg 浓度范围之间,加标回收率均在 72.1 %~98.8 %,其多次测定的 RSD 在 0.9 %~7.7 %之间,最低检出限均低于 10 $\mu\text{g/kg}$ 。本方法可满足进、出口大豆中多种除草剂残留量同时检验的工作需要。

关键词:大豆;农药残留量;色谱法,高压液相;光谱分析,质谱

Multiresidue analysis of sulfonylurea herbicides in soybeans

QI Yan, ZHANG Xin-zhong, YANG Qiang, CHU Xiao-gang

(Chinese Academy of Inspection and Quarantine, Beijing 100025, China)

Abstract: Reversed-phase high performance liquid chromatography and high performance liquid chromatography/electrospray ionization mass spectrometry have been developed for the simultaneous determination of multiple sulfonylurea herbicide residues in soybeans. Sulfonylurea herbicides were extracted from soybean samples with acetonitrile, and partitioned by hexane. After the extract was cleaned up with florisil column, sulfonylurea herbicides were analyzed by HPLC-DAD and HPLC-ESI(+)-MS and quantified by external standard method. Sample pre-treatment, LC and LC-MS analytical conditions were examined and optimized. The results indicated that the methods developed are easy, fast and sensitive. It also demonstrated that these multiresidue analysis methods can meet the requirements of simultaneous determination of multiple sulfonylurea herbicides for inspection of soybeans.

Key word: GLYCINE MAX; Pesticide Residues; Chromatography, High Pressure Liquid; Spectrum Analysis, Mass

磺酰脲类除草剂是目前世界上最大的一类除草剂。随着该类除草剂使用量及范围的加大,其在作物中的残留以及对人类健康的毒害也越来越为人们所关注^[1]。近年来欧盟、日本和美国等先后制定了大豆中多种磺酰脲类除草剂的残留限量^[2],使我国大豆出口面临越来越多的技术壁垒,直接影响了大豆出口贸易。然而,在我国大豆中磺酰脲类除草剂

的残留检测方法仍然是空白,无法满足进出口贸易的技术要求。因此,建立大豆中磺酰脲类除草剂残留检测方法迫在眉睫。

目前,国外对磺酰脲类除草剂残留分析的报道仅限于大豆中氯嘧磺隆单组分残留分析^[3],以及土壤和水中该类除草剂的 HPLC、CE 等^[4,5]。本文研究了大豆中环氧嘧磺隆、噻吩磺隆、甲磺隆、醚苯磺隆、

基金项目:国家科技基础条件平台重点项目(2003DIA6N003)

作者简介:祁彦 女 博士

This work was supported by the National Science and Technology Program Funds of Ministry of Science and Technology China.

氯磺隆、苄嘧磺隆、氟磺隆、吡嘧磺隆、氯嘧磺隆和氟嘧磺隆 10 种磺酰脲类除草剂多组分残留分析的 HPLC 和 LC-MS 方法。该方法的建立为促进我国进出口贸易的顺利进行提供了有力的技术支持。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂 HP 1100 高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司);二极管阵列检测器、Chemstation 色谱工作站(Rev. 09.01)。Micromass ZQ 质谱仪、Alliance 高效液相色谱仪(美国 Waters 公司), MassLynx 色谱工作站(v3.5)。标准品(Dr. Ehrenstorfer Co., Germany)。所用有机溶剂均为色谱纯,实验用水为 Milli-Q 高纯水。大豆试样由辽宁出入境检验检疫局提供。

标准溶液 乙腈配制标准储备液(200 μg/ml), -4 °C 冰箱避光存放,并用乙腈逐级稀释成相应的标准工作溶液。

1.2 试样处理

1.2.1 提取 大豆粉 5.00 g 置于 50 ml 离心管中,加入 30 ml 乙腈,旋涡、振荡、离心,重复提 2 次,合并上清液。30 ml 正己烷液-液分配,弃去正己烷层,收集乙腈层,浓缩近干。待净化。

1.2.2 净化 填 2.5 g 弗罗里硅土活化层析柱。用 20 ml 二氯甲烷预淋洗层析柱,试样用 8ml 二氯甲烷溶解,上样,8 ml 二氯甲烷+丙酮+甲醇(7.5+2+0.5)清洗,20 ml 二氯甲烷+甲醇(5+5)分 4 次洗脱,收集洗脱液,旋转蒸发器上 32 °C,80 r/min 减压浓缩至约 1 ml, N₂ 吹干,用乙腈浸出并定容 1 ml,待测。

1.3 HPLC 分离条件 Kromasil KR100-10 C₁₈ 色谱柱,乙腈+水(pH=2.5,85%磷酸调节)流动相体系,梯度程序见表 1。流速 1.0 ml/min;柱温 45 °C;检测波长 230 nm;进样量 10 μl。

表 1 流动相梯度洗脱程序

时间(min)	水(pH=2.5) (%)	乙腈 (%)
0.00	80	20
2.00	65	35
10.00	60	40
15.00	40	60
22.00	40	60
22.01	10	90
25.00	10	90

1.4 LC/MS 分离条件 ZORBAX SB-C₁₈ 色谱柱(美国 Agilent 公司)。乙腈+水(pH=2.5,甲酸调节)流动相体系,梯度程序见表 2。流速 0.2 ml/min;柱温

30 °C;进样量 10 μl。

ESI 正离子检测 毛细管电压 3 kV,源温度 110 °C,去溶剂温度 180 °C。监测离子和锥孔电压条件:环氧嘧磺隆 407/20,噻吩磺隆 388/16,甲磺隆 382/20,醚苯磺隆 402/22,氯磺隆 358/16,苄嘧磺隆 411/22,氟磺隆 420/26,吡嘧磺隆 415/16,氯嘧磺隆 415/16,氟嘧磺隆 469/22。每个选择离子停留时间为 0.1 s。

表 2 流动相梯度洗脱程序

时间(min)	水(pH=2.5) (%)	乙腈 (%)
0.00	80	20
2.00	60	40
10.00	55	45
15.00	10	90
16.00	80	20
25.00	80	20

2 结果和讨论

2.1 分析条件的选择 多组分残留分析中色谱条件的选择和优化,不仅应使待测组分完全分离,而且还应考虑待测组分与试样基质中的干扰物质分离,必须有合适的分离度。此外,由于待分离的 10 种除草剂化学结构相近,性质相似,在色谱柱中的保留相似,采用等度洗脱不能将待测组分完全分离。因此,通过对检测波长、固定相、流动相体系以及质谱条件进行详细的选择和优化,确定了最佳 HPLC 和 HPLC-MS 分离条件,不仅使 10 个组分完全分离,而且大豆试样基质不干扰待测组分的测定,获得了令人满意的结果。图 1 为 10 种磺酰脲类除草剂混合标准品的 HPLC 分离色谱图,图 2 为 LC-MS 分离的 TIC 图。

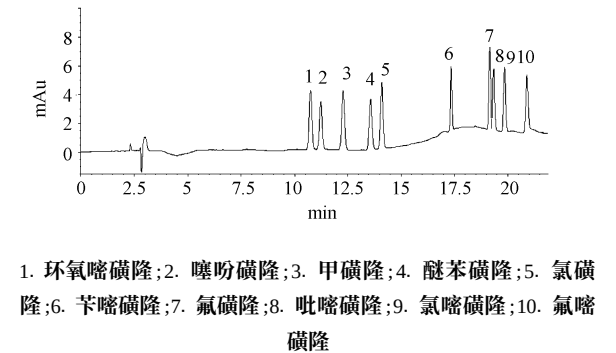
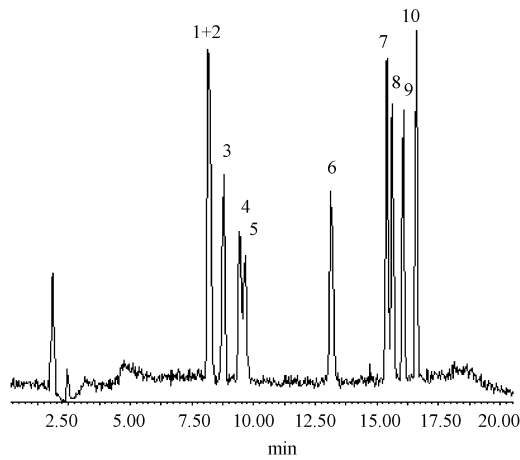


图 1 10 种磺酰脲类除草剂 HPLC 分析标准色谱图(1.0 μg/L)

2.2 前处理条件的选择 大豆的化学成分复杂,其中蛋白质和脂肪含量较高,试样基质将严重影响磺酰脲类除草剂的测定,回收率低,文献中采用的大豆试样前处理方法步骤繁多^[5],不仅操作复杂,费时费



1. 环氧嘧磺隆;2. 噻吩磺隆;3. 甲磺隆;4. 醚苯磺隆;5. 氯磺隆;6. 苄嘧磺隆;7. 氟磺隆;8. 吡嘧磺隆;9. 氯嘧磺隆;10. 氟嘧磺隆

图 2 10 种磺酰脲类除草剂混合标准品 (100 μg/L) 的 TIC 图

力,而且有机溶剂消耗量大。本研究分别采用丙酮、二氯甲烷、乙酸乙酯、乙腈 + 0.01 mol/L HCl (pH = 2) (7 + 3)、乙腈 + 水 (7 + 3) 和乙腈作为提取溶剂,液-液分配与 GPC 净化对比研究,以及 Florisil 层析柱、中型氧化铝和 C₁₈ 柱净化研究,最终确定试样经乙腈提取,正己烷分配,Florisil 柱净化的前处理条件,该条件不仅简便易行,且净化效果好,回收率稳定。

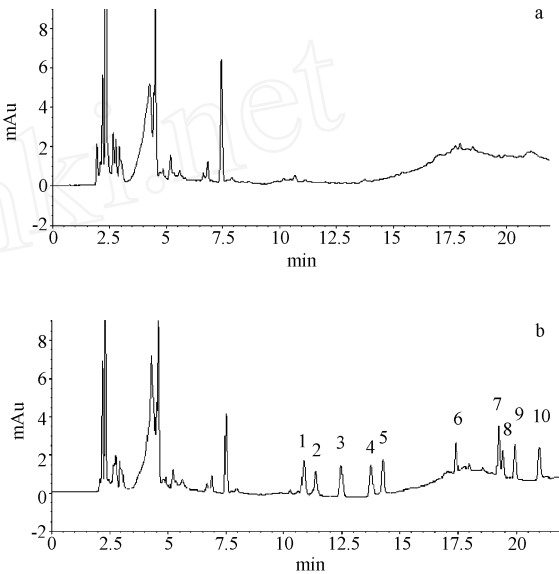
2.3 线性关系 在确定的最佳分离条件下,配制一系列不同浓度的混合标准溶液进行测定,以各组分的峰面积 (y) 对浓度 (x, μg/ml) 绘制校正曲线。结果表明,10 种磺酰脲类除草剂 HPLC 法测定,在 0.1~10.0 μg/ml 范围内线性良好,相关系数为 0.999 6~0.999 7。LC-MS 法测定在 0.025~1.0 μg/ml 范围内线性良好,相关系数为 0.999 5~0.999 8,均可以满足定量分析的需要,见表 3 和 4。

表 3 HPLC 法测定的线性关系与相关系数

除草剂	线性范围 (μg/ml)	线性方程	相关系数
环氧嘧磺隆	0.1~10.0	$y = 35.38x - 0.28$	0.9997
噻吩磺隆	0.1~10.0	$y = 29.52x - 0.43$	0.9997
甲磺隆	0.1~10.0	$y = 38.66x - 0.58$	0.9997
醚苯磺隆	0.1~10.0	$y = 33.03x - 0.22$	0.9997
氯磺隆	0.1~10.0	$y = 39.87x - 0.49$	0.9997
苄嘧磺隆	0.1~10.0	$y = 24.70x - 0.89$	0.9997
氟磺隆	0.1~10.0	$y = 34.41x - 0.21$	0.9997
吡嘧磺隆	0.1~10.0	$y = 27.98x - 0.63$	0.9997
氯嘧磺隆	0.1~10.0	$y = 30.68x - 1.05$	0.9996
氟嘧磺隆	0.1~10.0	$y = 29.68x + 1.81$	0.9996

表 4 LC-MS 法测定的线性关系与相关系数

除草剂	线性范围 (μg/ml)	线性方程	相关系数
环氧嘧磺隆	0.025~1.0	$y = 10620x + 108.35$	0.9995
噻吩磺隆	0.025~1.0	$y = 5323.8x + 92.24$	0.9998
甲磺隆	0.025~1.0	$y = 6698.2x - 40.82$	0.9998
醚苯磺隆	0.025~1.0	$y = 5883.5x + 7.86$	0.9995
氯磺隆	0.025~1.0	$y = 3937.9x + 11.69$	0.9996
苄嘧磺隆	0.025~1.0	$y = 8451.2x + 40.32$	0.9996
氟磺隆	0.025~1.0	$y = 9858x + 72.57$	0.9997
吡嘧磺隆	0.025~1.0	$y = 8311.6x + 40.09$	0.9997
氯嘧磺隆	0.025~1.0	$y = 6877.6x + 18.12$	0.9998
氟嘧磺隆	0.025~1.0	$y = 9087.6x + 40.50$	0.9995

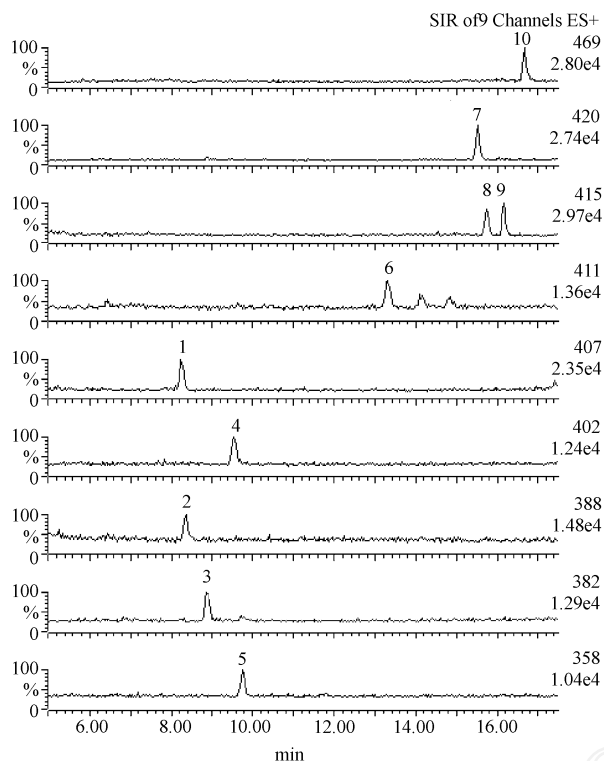


1. 环氧嘧磺隆;2. 噻吩磺隆;3. 甲磺隆;4. 醚苯磺隆;5. 氯磺隆;6. 苄嘧磺隆;7. 氟磺隆;8. 吡嘧磺隆;9. 氯嘧磺隆;10. 氟嘧磺隆

图 3 大豆空白试样 (a) 和添加 0.1 mg/kg 的试样 (b) HPLC 色谱图

2.4 回收率、精密度和检出限 在大豆空白试样中添加 10 种磺酰脲类除草剂的 3 个水平的混合标准溶液,按照方法操作步骤进行回收率实验,同时,每一个添加浓度平行重复操作 10 次,测定精密度,结果:HPLC 法测定 10 种磺酰脲类除草剂在 0.05~2.0 mg/kg 浓度范围之内,加标回收率均为 69.8%~100.7%,其多次测定的 RSD 在 1.9%~10.4%之间。添加浓度为 0.1 mg/kg 的大豆试样 HPLC 见图 3。LC-MS 测定在 0.02~0.1mg/kg 浓度范围之内,加标回收率均为 72.1%~98.8%,其多次测定的 RSD 在 0.9%~7.7%之间。添加浓度为 0.1 mg/kg 的大豆试样选择离子图见图 4。

在保证仪器检出限和回收率稳定的前提下,



1. 环氧磺隆;2. 噻吩磺隆;3. 甲磺隆;4. 醚苯磺隆;5. 氯磺隆;
6. 苄嘧磺隆;7. 氟磺隆;8. 吡嘧磺隆;9. 氯嘧磺隆;10. 氟嘧磺隆

图4 添加 0.1 mg/kg 磺酰脲类除草剂的选择离子色谱图

HPLC 法最低检出限均为 20 $\mu\text{g/kg}$, LC-MS 最低检出限均低于 10 $\mu\text{g/kg}$, 可以满足最大残留限量的检测要求。

参考文献

- [1] 邓金宝, 磺酰脲类除草剂综述[J]. 世界农药, 2003, 25 (3): 24-29.
- [2] 林维宣, 各国食品中农药残留兽药残留限量规定[M]. 大连, 大连海事大学出版社, 2002.
- [3] Prince J L, Guinivan R A. Analysis of chlorimuron ethyl in crops by high performance liquid chromatography[J]. J Agric Food Chem, 1988, 36: 63-69.
- [4] Menne J H, Janowitz K. Comparison of capillary electrophoresis and liquid chromatography for determination of sulfonylurea herbicides in soil [J]. J AOAC International, 1999, 82(6): 1534-1541.
- [5] Nemoto S, Lehotay S J, Analysis of multiple herbicides in soybeans using pressurized liquid extraction and capillary electrophoresis[J]. J Agric Food Chem, 1998, 46 (6): 2191-2199

[收稿日期: 2005 - 06 - 09]

中图分类号: R15; S565.1; TQ450.263

文献标识码: A

文章编号: 1004 - 8456(2005)06 - 0501 - 04

《鹿特丹公约》的历史背景——“事先知情同意程序”的历史演变

联合国粮农组织和环境署于 20 世纪 80 年代开始拟订和开展自愿性的资料交流方案, 逐步发展形成了《关于在国际贸易中对某些危险化学品和农药采用事先同意程序的鹿特丹公约》, 简称《鹿特丹公约》。由于公约的核心内容是事先知情同意程序 (Prior informed consent procedure), 因此也称为 (PIC 公约) ”

《国际农药供销与使用行为准则》和《关于化学品国际贸易资料交流的伦敦准则》

《国际农药供销与使用行为准则》(1985 年) 为整个生命周期的全面管理提供了框架, 对协助成员国建立和加强农药管理系统发挥了重要作用。尽管是一份自愿性合同, 但许多国家直接将准则的内容纳入到本国国家农药法律法规之中。

《关于化学品国际贸易资料交流的伦敦准则》(1987 年) 为发展中国家在本国建立相关程序, 有效使用化学品资料提供了构架。有效帮助了发展中国家避免因使用化学品 (特别是在其他国家被禁止的或严格限制的化学品) 而引起的严重的卫生和环境问题。