

蔡霖, 席普宇, 谢晴, 等. QuEChERS方法联合 HPLC-MS/MS 和 GC-MS 测定土壤中 110 种农药残留[J]. 农业环境科学学报, 2017, 36(8):1680–1688.

CAI Lin, XI Pu-yu, XIE Qing, et al. Development of a multiresidue method for determination of 110 pesticide residues in soil using QuEChERS-HPLC-MS/MS and QuEChERS-GC-MS[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2017, 36(8):1680–1688.

QuEChERS 方法联合 HPLC-MS/MS 和 GC-MS 测定土壤中 110 种农药残留

蔡霖, 席普宇, 谢晴, 李雪花, 乔显亮, 谢宏彬, 陈景文, 蔡喜运*

(大连理工大学环境学院, 工业生态与环境工程教育部重点实验室, 辽宁 大连 116024)

摘要: 采用 QuEChERS 前处理方法联合高效液相色谱串联二级质谱(HPLC-MS/MS)和气相色谱串联质谱(GC-MS), 建立了测定土壤中 110 种农药残留的方法。通过调整加入水中的乙酸含量对 QuEChERS 方法进行优化, 结果表明加入 1% 的乙酸提高了农药的回收率。基于农药的极性、热稳定性、挥发性等特性差异, 分别采用 HPLC-MS/MS 测定其中的 43 种农药和 GC-MS 测定另外的 67 种农药。采用内标法测定回收率, 内标为阿特拉津-d5、磺酰磺隆、1,3-二甲基-2-硝基苯、磷酸三苯酯、萘-d12。在 3 个添加水平(10、20、50 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)下, 由 HPLC-MS/MS 测定的 43 种农药的平均回收率范围为 59.1%~129.4%, 相对标准偏差(RSD)在 0.3%~15%之间; 由 GC-MS 测定的 67 种农药的平均回收率范围为 44.9%~168.1%, RSD 在 0.5%~20%之间。方法的检出限范围为 0.01~5.00 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。采用该方法检测某土壤样品, 共检出农药 68 种, 其中主要包括烟嘧磺隆、炔苯酰草胺、乙氧氟草醚、灭菌丹、烯酰吗啉、高效氯氟氰菊酯和部分有机磷、有机氯农药等, 结果表明该方法简单有效、检测灵敏度高, 可用于土壤中农药多残留的检测。

关键词: QuEChERS; 高效液相色谱串联质谱; 气相色谱串联质谱; 农药残留; 土壤

中图分类号: X592 文献标志码: A 文章编号: 1672-2043(2017)08-1680-09 doi:10.11654/jaes.2016-1657

Development of a multiresidue method for determination of 110 pesticide residues in soil using QuEChERS-HPLC-MS/MS and QuEChERS-GC-MS

CAI Lin, XI Pu-yu, XIE Qing, LI Xue-hua, QIAO Xian-liang, XIE Hong-bin, CHEN Jing-wen, CAI Xi-yun*

(Key Laboratory of Industrial Ecology and Environmental Engineering (Ministry of Education), School of Environmental Science and Technology, Dalian University of Technology, Dalian 116024, China)

Abstract: A method was established for the determination of 110 pesticides in soil using high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry (HPLC-MS/MS) and gas chromatography tandem mass spectrometry (GC-MS) with modified QuEChERS (Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, and Safe). Levels of acetic acid used in the QuEChERS procedure were optimized, and results indicated that higher recoveries were obtained when 1% acetic acid was added. Based on differences in polarity, thermostability, volatility, and other characteristics of pesticides, analysis of 43 pesticides was conducted via HPLC-MS/MS and the other 67 pesticides were analyzed using GC-MS. Five internal standards (atrazine-d5, sulfosulfuron, 1,3-dimethyl-2-nitrobenzene, triphenyl phosphate, and perylene-d12) were used for the method validation. The average recoveries of the 43 pesticides analyzed via HPLC-MS/MS at three spike levels (10, 20, and 50 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$) ranged from 59.1% to 129.4% with relative standard deviations (RSDs) between 0.3% and 15%; whereas the average recoveries of the 67 compounds analyzed using GC-MS ranged from 44.9% to 168.1% with RSDs of 0.5%~20%. The detection limits of the method ranged from 0.01 to 5.00 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$. The established method was used to determine pesticide residues in a soil sample, in which 68 pesticides were found,

收稿日期: 2016-12-26

作者简介: 蔡霖(1990—), 男, 硕士研究生, 主要从事污染物残留分析。E-mail: cailinyushui@163.com

* 通信作者: 蔡喜运 E-mail: xiyuncai@dlut.edu.cn

基金项目: 公益性行业(农业)科研专项(201503107); 国家自然科学基金项目(21477013)

Project supported: The Special Scientific Fund for Agro-scientific Research in the Public Interest (201503107); National Natural Science Foundation of China (21477013)

including nicosulfuron, propyzamide, oxyfluorfen, folpet, dimethomorph, lambda-cyhalothrin, some organophosphorus pesticides, and some organochlorine pesticides. Overall, the method is simple, efficient, and sensitive, and thus can be used for the simultaneous determination of pesticide residues in soil.

Keywords: QuEChERS; high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry; gas chromatography tandem mass spectrometry; pesticide residues; soil

据国家统计局年度数据,2012年以来我国农药年施用量超过180万t,且呈现出递增趋势^[1]。农药的大量使用导致土壤中农药的残留,例如阿特拉津、乙草胺等农药因长期大量使用而在土壤中广泛残留,已禁用的滴滴涕、六六六等有机氯农药则因其自身结构稳定,也能够长期残留在土壤中,仍被频繁检出。残留的农药易被农作物吸收,被食用后则会危害人类健康。据王万红等^[2]报道,辽宁省北部农田中阿特拉津、乙草胺和丁草胺检出率为100%,最大残留量分别为21.2、203.2、30.9 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$;艾氏剂、狄氏剂和六氯苯也被检出,六氯苯检出率为100%。尹可锁等^[3]报道,滇池流域农田中有机氯农药检出率达到95.9%,残留浓度在ND~63.4 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 之间。因此,需要开展土壤中农药多残留分析技术研究,为农田土壤中农药残留特征分析和风险评估提供技术支撑。

土壤中农药残留检测主要包括样品前处理和仪器分析两部分。常见前处理方法包括加速溶剂萃取法^[4]、固相萃取法^[5]、微波辅助萃取法^[6]、QuEChERS方法^[7-8]等。其中:加速溶剂萃取法需要装柱、洗脱、净化等步骤,耗时较长;固相萃取法则因存在柱子选择问题,使其能够萃取的化合物比较单一;微波辅助萃取法对实验条件要求较高,实验繁琐且耗时较长。QuEChERS方法因其具有快速、简单、有效、廉价、安全、耐用等特点受到了广泛应用,例如:Rashid等^[7]采用QuEChERS方法结合GC-MS测试了土壤中19种有机氯农药,回收率在70%~100%之间,相对标准偏差在3%~20%之间;熊伟娜等^[8]采用QuEChERS方法作为前处理技术结合HPLC对苯线磷及其两种代谢产物进行了分析测定,回收率在82.5%~97.4%之间,相对标准偏差在2.5%~6.1%之间。常用的仪器测试技术为HPLC、GC、HPLC-MS/MS和GC-MS。本文基于农药极性、热稳定性、挥发性等特点的不同进行分类测试,采用HPLC-MS/MS分析磺酰脲类、三嗪类除草剂等43种农药,GC-MS分析有机氯、有机磷杀虫剂、酰胺类除草剂等67种农药,建立了土壤中110种农药的残留分析方法。与前人建立的农药残留分析方法相比,本方法操作简单、灵敏度高、检测农药种类多。

1 材料与方法

1.1 仪器和试剂

高效液相色谱三重串联四级杆质谱联用仪(Agilent 2100SL液相色谱,Agilent 6410B质谱),配有电喷雾离子源,Eclipse XDB-C18分析柱(150×3 mm,3.5 μm ,Agilent公司);Agilent 6890-5975型气相色谱-质谱(Agilent 6890N气相,Agilent 5975质谱),DB-5MS石英毛细管柱(30 m×0.25 mm×0.25 μm);BS224S电子天平(北京赛多利斯);QKPURE实验室超纯水仪器(上海涑科);QL-901涡旋振荡器(海门其林贝尔);TDL-5-A台式离心机(上海安亭);KQ5200DB数控超声仪(昆山舒美);WD-12氮吹仪(杭州奥盛)。

正己烷、丙酮、乙腈、甲酸均为色谱纯(美国Sigma-Aldrich公司);乙二胺-N-丙基硅烷(PSA)、无水硫酸镁、氯化钠均为分析纯;噻菌灵、噻虫嗪、啉虫脲、甲霜灵、异丙威、烯酰吗啉、啞菌酯、丙溴磷、戊唑醇、异菌脲、丙环唑、苯醚甲环唑、2,4-滴丁酯、乙氧氟草醚、联苯菊酯、吡蚜灵、高效氯氟氰菊酯来自企业馈赠,其余购自北京百灵威科技有限公司(纯度>97%);分别称取一定量43种农药(HPLC-MS/MS测定)和67种农药(GC-MS测定),分别采用乙腈和正己烷溶解,将农药配制成1 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的混标储备液,保存在-20℃。分别采用乙腈和正己烷稀释,配制5、10、20、50、100、200、500共7个浓度的标准曲线,供HPLC-MS/MS和GC-MS分析测试,现配现用。

1.2 样品前处理

取10 g(精确至0.01 g)土壤置于50 mL离心管中,加入含1%乙酸的超纯水6 mL,然后加入10 mL乙腈涡旋振荡1 min;称取4 g无水硫酸镁和1 g氯化钠加入离心管中,充分涡旋振荡除水;在4000 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 转速下离心分离5 min,转移全部上清液到10 mL离心管中,称取1 g无水硫酸镁和200 mg PSA加入离心管中,振荡后在4000 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 转速下离心分离5 min;取3 mL上清液加入到氮吹管中,氮吹至近干,加入1 mL乙腈和水(体积比1:1)的混合液,涡旋振荡后过0.22 μm 滤膜到液相小瓶中,供HPLC-MS/MS分析;

同时取 3 mL 上清液加入到氮吹管,氮吹至近干,加入 1 mL 正己烷,涡旋振荡后过 0.22 μm 滤膜到液相小瓶中,供 GC-MS 分析。

1.3 液相色谱与质谱条件

液相条件:流动相为乙腈(A相)和含 0.1%甲酸的超纯水(B相);流速 0.25 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$;进样量 10 μL 。进样梯度:0~4 min,50%A~60%A;4~6 min,60%A~70%A;6~6.1 min,70%A~75%A;6.1~10 min,75%A~80%A;10~15 min,80%A~90%A。

质谱条件:电喷雾离子源,正离子模式;干燥气温

度 350 $^{\circ}\text{C}$;干燥气流速 8 $\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$;毛细管电压 4 kV;电喷雾压力 25 psi(1 psi=6.895 kPa);检测方式为多离子反应监测模式(MRM)。

配制农药混标溶液,ESI 源选择正离子模式,采用 SCAN 模式,扫描得到各农药的母离子、碎片离子及其对应的碰撞能量等参数,分析优化参数见表 1。

1.4 气相色谱串联质谱测试条件

色谱条件:载气为氦气(纯度 99.999%);恒流模式,流速 1.2 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$;进样口温度 290 $^{\circ}\text{C}$;进样量 1 μL ;不分流进样,无分流进样后打开分流阀和隔垫吹

表 1 农药残留 HPLC-MS/MS 测试条件及结果

Table 1 Test conditions and results of pesticides for HPLC-MS/MS analysis

编号	化合物	保留时间/ min	母离子	碎片离子	碰撞能量	决定系数	检出限/ $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	平均 回收率/%	残留浓度/ $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	标准偏差/ $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$
1	羧基阿特拉津	2.327	198	156/128	14/27	0.981 0	0.03	60.6	0.81	0.40
2	噻菌灵	2.582	202	175/126	20/20	0.996 3	0.04	67.4	0.21	0.15
3	噻虫嗪	3.141	292	211/132	8/16	0.986 4	0.55	59.3	0.70	0.63
4	杀草敏	3.624	222	104/92	20/20	0.998 9	0.01	71.4	0.03	0.01
5	啉虫脒	3.775	223	126/56	30/21	0.991 9	0.94	95.5	ND	
6	烟嘧磺隆	4.056	411	182/213	20/15	0.980 6	0.07	116.2	8.65	0.56
7	甲氧隆	4.675	229	72/156	15/15	0.985 6	0.27	74.5	ND	
8	噻吩磺隆	5.223	388	167/141	10/25	0.975 0	0.12	84.5	ND	
9	甲磺隆	5.652	382	167/141	15/20	0.978 6	0.37	90.1	ND	
10	西玛津	5.852	202	132/124	15/15	0.999 0	0.03	94.7	0.06	0.03
11	醚苯磺隆	6.173	402	167/141	15/20	0.994 0	0.23	96.3	ND	
12	砒啶磺隆	6.258	432	325/182	15/20	0.965 2	0.17	61.9	ND	
13	甲嘧磺隆	6.307	365	199/150	20/15	0.974 6	0.07	129.4	ND	
14	氯磺隆	6.503	358	167/141	15/15	0.995 4	0.40	83.3	ND	
15	噻苯胺磺隆	6.628	425	227/199	10/5	0.983 0	0.29	96.7	ND	
16	甲磺胺磺隆	6.787	504	182/162	20/40	0.995 3	0.05	108.2	ND	
17	砒啶磺隆	6.911	370	261/218	10/20	0.996 9	1.14	97.5	ND	
18	三氟啶磺隆钠盐	7.128	438	182	20	0.994 3	0.17	94.4	ND	
19	甲霜灵	7.908	280	220/248	17/14	0.990 4	1.67	80.0	ND	
20	阿特拉津-d5(内标)	8.017	221	179/101	22/30					
21	阿特拉津	8.060	216	174/146	6/12	0.997 3	0.02	94.9	4.61	0.21
22	扑草净	8.255	242	200/158	15/20	0.998 1	0.02	93.4	0.03	0.01
23	磺酰磺隆(内标)	8.297	471	261/211	15/10					
24	异丙威	8.913	194	95/152	18/11	0.987 5	1.44	92.7	ND	
25	苄嘧磺隆	8.935	411	182/149	15/20	0.996 2	0.05	96.1	ND	
26	啉嘧磺隆	9.163	408	301/182	10/15	0.995 3	3.43	96.7	ND	
27	苯磺隆	9.355	396	181/155	20/10	0.970 4	1.26	61.8	ND	
28	碘甲磺隆钠盐	9.501	508	167	15	0.993 3	0.16	90.7	ND	
29	烯酰吗啉	9.816	388	301/165	17/28	0.997 4	0.07	119.1	48.43	6.30
30	扑灭津	10.590	230	146/188	20/20	0.999 2	0.01	97.5	0.09	0.01
31	脱乙基阿特拉津	10.532	188	146/104	17/23	0.999 5	0.08	98.9	0.18	0.04
32	氟磺隆	10.576	420	167/141	15/10	0.994 2	0.15	94.1	ND	
33	吡嘧磺隆	11.024	415	182/139	20/40	0.997 9	0.08	120.1	ND	

续表 1 农药残留 HPLC-MS/MS 测试条件及结果

Continued table 1 Test conditions and results of pesticides for HPLC-MS/MS analysis

编号	化合物	保留时间/ min	母离子	碎片离子	碰撞能量	决定系数	检出限/ μg·kg ⁻¹	平均 回收率/%	残留浓度/ μg·kg ⁻¹	标准偏差/ μg·kg ⁻¹
34	脱异丙基阿特拉津	11.074	174	132/104	16/22	0.999 6	0.23	100.9	ND	
35	特丁津	11.077	230	174/176	15/15	0.999 4	0.04	98.1	0.06	0.03
36	氯嘧磺隆	11.344	415	213/186	10/15	0.988 6	0.09	98.7	ND	
37	噻菌酯	11.492	404	372/344	21/33	0.995 8	0.45	102.9	ND	
38	丙溴磷	11.500	373	303/109	15/15	0.997 2	0.22	92.7	0.88	1.20
39	氯吡嘧磺隆	11.579	436	183/139	20/40	0.997 9	1.07	108.0	ND	
40	氟胺磺隆	11.714	493	264/238	20/20	0.994 2	0.05	86.2	ND	
41	甲基氟嘧磺隆	11.825	469	254	15	0.994 7	0.08	88.5	ND	
42	戊唑醇	12.206	308	70/125	60/57	0.997 7	0.01	114.6	0.03	0.02
43	异菌脲	12.843	330	245/101	15/20	0.999 2	1.50	59.1	ND	
44	丙环唑	13.455	342	159/69	20/15	0.997 4	0.15	91.4	ND	
45	苯醚甲环唑	14.225	406	251/337	36/24	0.997 9	0.17	82.7	10.67	1.23

扫阀。柱温箱升温程序:80 ℃,保持 3 min,然后以 30 ℃·min⁻¹ 升温到 150 ℃,再以 6 ℃·min⁻¹ 升温到 290 ℃,保持 1 min。

质谱条件:电子轰击源 70 eV;离子源温度 230 ℃;电离模式为电子轰击电离(EI);MS 接口温度 280 ℃;溶剂延迟时间 4 min;数据采集模式选择离子扫描模式(SIM)。

配制农药混标溶液,采用 SCAN 模式,扫描得到

各农药的定量离子和定性离子等参数,分析优化参数见表 2。

2 结果与讨论

2.1 测试条件的优化

2.1.1 HPLC-MS/MS 测试条件优化

在 SCAN 模式下,对各农药进行一级质谱扫描,获得各农药的母离子,采用二级质谱分析扫描各农药

表 2 农药残留 GC-MS 测试条件及结果

Table 2 Test conditions and results of pesticides for GC-MS analysis

编号	化合物	保留时间/ min	定量离子	定性离子	决定系数	检出限/ μg·kg ⁻¹	平均 回收率/%	残留浓度/ μg·kg ⁻¹	标准偏差/ μg·kg ⁻¹
1	1,3-二甲基-2-硝基苯(内标)	5.937	79	134					
2	敌敌畏	6.369	109	185/79	0.979 3	0.70	48.1	3.62	0.63
3	四氯硝基苯	10.083	203	201/215	0.986 1	1.85	68.8	ND	
4	氟乐灵	10.993	306	264/105	0.981 0	0.62	133.9	ND	
5	甲拌磷	11.455	75	121	0.981 8	1.19	109.8	3.35	3.21
6	α-六六六	11.582	183	219	0.994 9	0.71	121.7	5.73	1.33
7	甲基乙拌磷	11.786	88	125	0.984 7	0.82	119.8	2.29	1.76
8	β-六六六	12.218	219	183	0.994 8	2.78	142.0	6.91	4.79
9	五氯硝基苯	12.345	265	295/249	0.997 9	2.17	153.8	9.76	5.45
10	克菌丹	12.355	237	249/214	0.989 4	4.55	120.0	10.99	1.86
11	γ-六六六	12.487	219	183	0.998 1	0.70	115.7	2.93	1.53
12	炔苯酰草胺	12.726	173	145/255	0.999 2	2.00	123.4	12.08	2.19
13	地虫磷	12.731	109	137/173	0.987 6	1.09	137.6	3.08	1.73
14	二嗪磷	12.817	137	179.2/152	0.984 2	1.47	94.9	13.06	2.37
15	百菌清	12.919	266	109/124	0.980 4	1.67	73.3	8.32	1.38
16	乙拌磷	13.142	88	142	0.979 3	0.57	105.3	ND	
17	δ-六六六	13.254	219	183	0.996 7	2.78	96.4	12.69	4.93
18	五氯苯胺	13.727	264.5	192/132	0.995 6	3.85	113.2	ND	
19	乙草胺	14.128	146	162/223	0.987 5	1.61	81.6	9.69	0.89

续表 2 农药残留 GC-MS 测试条件及结果

Continued table 2 Test conditions and results of pesticides for GC-MS analysis

编号	化合物	保留时间/ min	定量离子	定性离子	决定系数	检出限/ $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	平均 回收率/%	残留浓度/ $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	标准偏差/ $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$
20	毒死蜱	14.149	286	125/79	0.980 4	0.88	130.0	ND	
21	2,4-D 丁酯	14.230	185	276/162	0.990 5	2.50	152.0	4.23	2.14
22	乙烯菌核利	14.271	198	124/214	0.992 6	1.32	100.4	13.06	0.16
23	七氯	14.601	100	272	0.981 0	2.00	95.6	6.71	0.96
24	甲基嘧啶磷	15.033	290	276/305	0.982 2	1.04	126.9	1.51	0.55
25	甲基对硫磷	15.068	109	125/277	0.987 8	2.94	88.6	19.36	2.49
26	杀螟硫磷	15.074	125	109/277	0.973 1	1.04	68.3	16.13	7.08
27	抑菌灵	15.272	123	167/149	0.990 0	1.02	103.4	24.72	2.44
28	马拉硫磷	15.378	125	93/173	0.975 5	1.04	154.7	1.44	0.21
29	异丙甲草胺	15.495	162	238	0.988 9	0.63	143.9	2.40	1.58
30	毒死蜱	15.566	97	199/125	0.980 0	0.61	110.3	6.27	0.95
31	甲拌磷砒	15.587	97	153	0.980 0	1.79	103.0	4.74	2.60
32	艾氏剂	15.643	91	263/79	0.993 7	0.60	76.2	78.39	9.99
33	倍硫磷	15.704	278	125	0.976 5	0.68	133.6	1.64	0.19
34	对硫磷	15.790	97	109/291	0.980 8	0.61	106.8	3.63	0.67
35	三唑酮	15.897	208	85/128	0.985 3	0.51	120.6	6.92	1.71
36	除螨酯	16.146	77	141/268	0.989 5	1.04	114.3	4.44	1.30
37	环氧七氯	16.806	81	353	0.993 7	1.00	70.7	31.39	6.11
38	毒虫畏	16.888	267	323/147	0.994 2	5.00	95.9	ND	
39	腐霉利	17.127	96	283/124	0.995 6	2.50	83.1	ND	
40	灭菌丹	17.223	104	260/76	0.987 2	5.00	69.2	70.25	9.85
41	三唑醇	17.397	112	128/168	0.981 0	1.16	106.0	13.25	5.69
42	杀扑磷	17.437	85	145/125	0.981 1	0.01	93.1	45.25	4.58
43	反式-氯丹	17.519	373	237	0.996 4	0.11	140.9	ND	
44	丁草胺	17.787	176	160	0.984 7	2.00	164.3	ND	
45	顺式-氯丹	17.909	373	237	0.990 9	0.52	131.0	ND	
46	反式-九氯	18.001	409	236.8	0.991 6	0.45	136.3	3.96	1.20
47	杀螨酯	18.239	111	175/302	0.993 0	0.98	153.0	ND	
48	4,4'-滴滴伊	18.600	246	318	0.994 3	0.18	135.5	2.21	1.90
49	狄氏剂	18.717	79.1	263	0.992 3	1.61	118.6	41.28	3.33
50	乙氧氟草醚	18.814	252	300/361	0.987 9	0.60	134.1	37.58	1.55
51	异狄氏剂	19.332	263	81	0.981 5	4.55	69.0	95.57	3.35
52	β -硫丹	19.652	237	339/195	0.975 3	0.70	129.3	20.93	4.78
53	顺式-九氯	19.815	409	237/263	0.992 0	0.71	163.4	7.36	1.89
54	4,4'-滴滴涕	19.850	235	165	0.990 2	0.15	168.1	1.88	1.52
55	乙硫磷	19.886	231	97/153	0.979 0	1.32	105.4	4.38	0.20
56	异狄氏剂醛	20.094	345	245	0.981 8	2.50	44.9	84.40	5.14
57	杀螨好	20.257	252	324/108	0.993 5	0.53	143.0	ND	
58	三硫磷	20.684	157	97	0.979 4	0.62	145.4	5.03	1.95
59	硫丹硫酸酯	20.806	272	237	0.979 7	1.04	129.8	9.62	3.28
60	4,4'-滴滴涕	20.989	235	165	0.979 0	2.78	83.4	38.32	5.88
61	磷酸三苯酯(内标)	21.533	326	77					
62	异狄氏剂酮	22.193	314	187/245	0.997 7	2.94	85.2	ND	
63	联苯菊酯	22.518	181	165	0.985 6	0.19	105.2	0.63	0.07
64	甲氧滴滴涕	22.691	227	152	0.971 7	1.35	86.2	ND	

续表 2 农药残留 GC-MS 测试条件及结果

Continued table 2 Test conditions and results of pesticides for GC-MS analysis									
编号	化合物	保留时间/ min	定量离子	定性离子	决定系数	检出限/ μg·kg ⁻¹	平均 回收率/%	残留浓度/ μg·kg ⁻¹	标准偏差/ μg·kg ⁻¹
65	三氯杀螨砒	23.245	159	111	0.984 4	1.72	156.5	1.91	1.33
66	伏杀硫磷	23.453	182	207	0.992 7	1.72	74.7	51.84	2.40
67	高效氯氟氰菊酯	24.129	181	197/208	0.986 6	1.52	82.4	45.05	7.37
68	吡螨灵	25.603	147	117/132	0.990 3	1.32	92.1	83.43	11.70
69	高效氯氰菊酯	27.132	163	181/165	0.986 3	2.50	98.7	7.23	4.05
70	茚-d12(内标)	27.423	264	132					

的母离子,确定碎片离子,然后对碎片离子对应的碰撞能量(CE)值等参数进行了优化。以碘甲磺隆钠盐为例,在 SCAN 模式下扫描得到母离子为 508,其碎片离子为 167,然后对碎片离子 167 对应的 CE 值进行优化,通过比对发现,CE=10、15、20、25 eV 时对应的丰度分别为 5000、5200、5100、5100,故选择碎片离子 167 对应的 CE 值为 15 eV。

对液相色谱流动相梯度也进行了优化(表 3),其中采用梯度 3 时,45 种化合物的色谱峰分布均匀,15 min 就可以得到所有农药的色谱峰(图 1)。与前人在 20 min 得到 4 种农药的色谱峰和在 30 min 得到 12 种农药的色谱峰^[4-5]相比,本方法检测效率较高。

2.1.2 GC-MS 测试条件优化

在 SCAN 模式下,扫描得到各农药的碎片离子,选择丰度最大的碎片离子作为对应农药的定量离子,选择其他碎片离子作为定性离子。以乙草胺为例,在 SCAN 模式下扫描得到的碎片离子 146 和 162 对应丰度分别为 4000 和 3300,故选择碎片离子 146 作为定量离子,选择 162 作为定性离子。根据质谱数据库中的化合物比对功能,核对乙草胺的分子结构,确定保留时间,同时采用 SIM 模式测试样品,扫描待测化合物的定性碎片离子和定量碎片离子以提高仪器灵敏度。图 2 为 SIM 模式下得到的 67 种农药和 3 种内

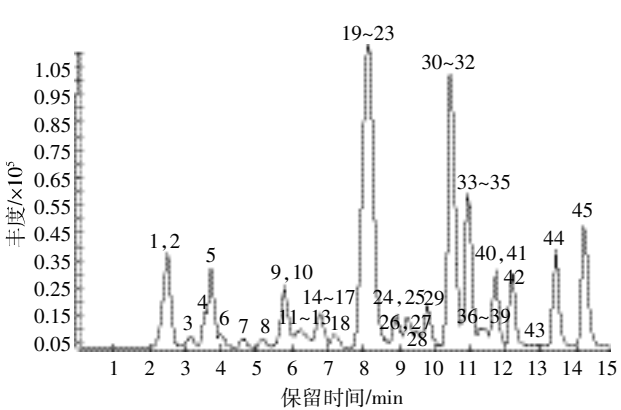


图 1 43 种农药和 2 种内标标准品的总离子色谱图
Figure 1 Total ion chromatograms of 43 pesticides and 2 internal standards

标标准品的总离子色谱图。

2.2 QuEChERS 前处理方法的优化

本方法的前处理过程采用 AOAC (Association of Official Analytical Chemists) 2007.01 官方 QuEChERS 方法,具体包括:在 10 g(精确至 0.01 g)土壤中加入 10 mL 乙腈及 6 mL 含有缓冲物质的水涡旋振荡 1 min,然后加入 4 g 无水硫酸镁和 1 g 氯化钠涡旋振荡 0.5 min,离心分离,接着取 1 mL 上清液加入 25 mg 的 PSA 和 150 mg 无水硫酸镁,振荡后离心分离,过 0.22 μm 滤膜到液相小瓶中,供 HPLC-MS/MS 或 GC-MS 分析测定。而本方法在第一次离心分离后取出所有上清液加入 200 mg 的 PSA 和 1 g 的无水硫酸镁,振荡后离心分离,取两份上清液进行后续处理分析。

AOAC2007.01 官方 QuEChERS 方法中需要加入含有缓冲物质的水,由于磺酰脲类除草剂为弱酸性化合物^[9],方法中加入的乙酸含量对其回收率影响较大,故以 21 种磺酰脲类除草剂为例,通过实验比较了加入含 0.1%和 1%乙酸的水对其回收率的影响(图 3)。结果显示,加入含 0.1%乙酸的水的回收率范围为

表 3 用于优化的 3 种流动相梯度

Table 3 3 mobile phase gradients used for optimization					
梯度 1		梯度 2		梯度 3	
t/min	乙腈/%	t/min	乙腈/%	t/min	乙腈/%
0	30	0	50	0	50
0.5	30	4	60	4	60
6	50	6	70	6	70
10	70	10	80	6.1	75
12	90	15	90	10	80
15	100	20	90	15	90
20	100				

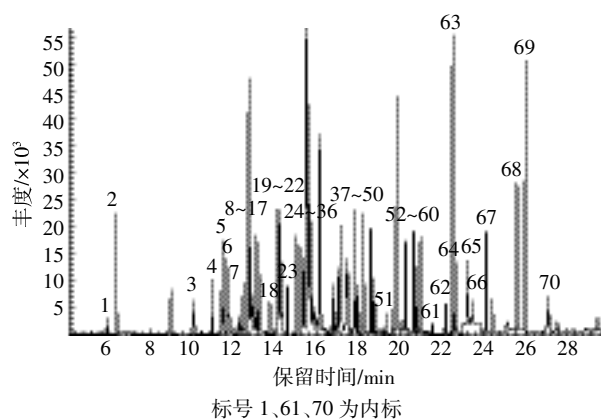


图2 67种农药和3种内标标准品的总离子色谱图
Figure 2 Total ion chromatograms of 67 pesticides and 3 internal standards

20.5%~125.7%,加入含1%乙酸的水的回收率范围为47.7%~128.6%,其中17种磺酰脲类除草剂回收率得到不同程度提高,平均提高了21.6%。此外,由于经过改进的QuEChERS方法将农药残留浓度浓缩了300%,因此可提高样品中农药残留的检出限。

2.3 方法的决定系数和检出限

配制5~500 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 一系列浓度梯度的标准液,绘制标准曲线, r^2 在0.965 2~0.999 6之间(表1、表2)。由检出限定义信噪比为3时对应的浓度,配制0.1~10 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 一系列的低浓度梯度的标准液,确定了110种农药的方法检出限为0.01(杀扑磷)~5.00(毒虫畏、灭菌丹) $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ (表1、表2)。

同一种农药采用GC-MS和HPLC-MS/MS测定时具有不同的灵敏度,例如:Alder等^[9]整理的文献中介绍阿特拉津在GC-MS的定量限为10 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$,而在HPLC-MS/MS上的定量限仅为0.1 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$;西玛

津在GC-MS的定量限为100 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$,而在HPLC-MS/MS上的定量限为1 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ^[10~12]。本方法采用HPLC-MS/MS测定的阿特拉津和西玛津的定量限分别为1.56、0.6 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。4,4'-DDE通常采用GC-MS测定,检出限为4.5 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ^[13],而鲜有报道采用HPLC-MS/MS测定4,4'-DDE,本方法采用GC-MS测定的4,4'-DDE的检出限为0.54 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。本方法将GC-MS与HPLC-MS/MS结合起来测定农药残留,显著提高了农药的检测灵敏度。

2.4 方法的回收率、精密度和土壤样品测定结果

在10、20、50 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 添加水平下,采用内标法测定110种农药的回收率,内标为阿特拉津-d5、磺酰磺隆、1,3-二甲基-2-硝基苯、磷酸三苯酯和茚-d12,其中阿特拉津-d5和磺酰磺隆用于校正HPLC-MS/MS测定的43种农药,1,3-二甲基-2-硝基苯、磷酸三苯酯和茚-d12用于校正GC-MS测定的67种农药。3种添加水平下各农药的回收率范围见图4。在10 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 添加水平下,回收率为50%~150%的农药共99种,占检测农药总数的90.0%;在20 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 添加水平下,回收率为50%~150%的农药共94种,占85.5%;在50 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 添加水平下,回收率为50%~150%的农药共93种,占84.5%。根据欧盟农药残留检测标准导则,测试农药种类较多(百种以上)时,它们的回收率在50%~150%范围内和相对标准偏差小于20%时,测试方法是可行的^[14~16]。由HPLC-MS/MS测定的43种农药的平均回收率范围为59.1%~129.4%,相对标准偏差(RSD)在0.3%~15%之间;由GC-MS测定的67种农药的平均回收率范围为44.9%~168.1%,RSD在0.5%~20%之间。只有GC-MS测定的10种农药

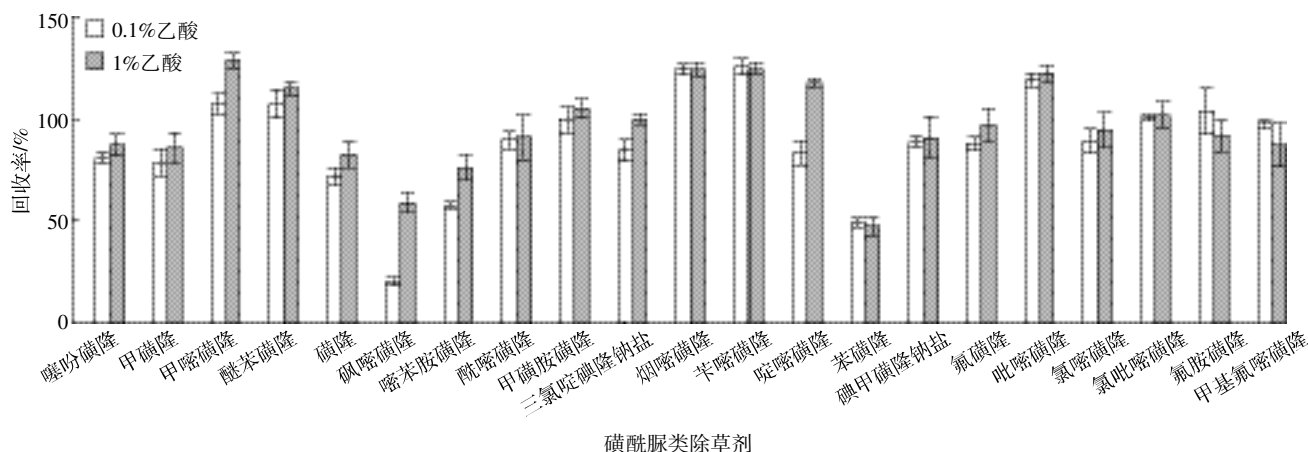


图3 加入含0.1%和1%乙酸时21种磺酰脲类除草剂的回收率

Figure 3 Recoveries of 21 sulfonylurea herbicides with addition of 0.1% and 1% acetic acid

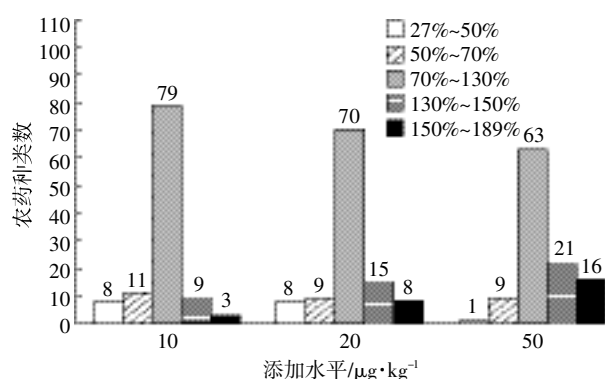


图4 不同添加水平各回收率范围下农药种类数

Figure 4 Pesticide number of every each range at different spike level

(异狄氏剂醛、敌敌畏、五氯硝基苯、2,4-D 丁酯、马拉硫磷、丁草胺、杀螨酯、顺式九氯、4,4'-DDD、三氯杀螨砒)平均回收率在 50%~150% 范围外,而这些农药在 $10 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 添加水平下,其回收率均在 50%~150% 范围内,能够满足农药残留检测的要求。因此该方法可用于土壤中农药残留的检测。

采用本方法检测了采集自辽宁省某玉米田($42^{\circ}37'50''\text{N}$, $121^{\circ}57'58''\text{E}$)的土壤样品,检出农药 68 种(表 1、表 2),主要包括阿特拉津、烟嘧磺隆、炔苯酰草胺、乙氧氟草醚、灭菌丹、烯酰吗啉、高效氯氟氰菊酯和部分有机磷、有机氯农药等。其中烟嘧磺隆的残留浓度为 $8.65 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$,据报道土壤中含有 $0.01 \sim 0.07 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的磺酰脲类除草剂残留就会对一些敏感作物产生影响^[17],因此该区域磺酰脲类除草剂残留可能会对农作物产生不利影响。该检测土壤中有机磷农药共检出 20 种,总残留浓度为 $198.93 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$,其中伏杀硫磷、杀扑磷均超过 $25 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$,根据加拿大颁布的土壤环境质量标准规定,有机磷农药残留总量不应超过 $25 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ^[18],显然该检测样点有机磷农药残留浓度超标。有机氯农药共检出 18 种,其中六六六、滴滴涕、艾氏剂、狄氏剂、异狄氏剂、七氯都能够被检出,残留浓度范围为 $6.71 \sim 95.57 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$,均未超过国家土壤环境质量标准。

3 结论

(1)建立了 QuEChERS 方法联合 HPLC-MS/MS 和 GC-MS 测定土壤中 110 种农药残留的方法,通过对前处理条件和仪器条件的优化,该方法能够快速准确测定土壤中 110 种农药的残留浓度。

(2)110 种农药在 $5 \sim 500 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度范围内线性

关系良好, r^2 在 $0.965 \sim 0.999$ 之间。由 HPLC-MS/MS 测定的 43 种农药的平均回收率范围为 $59.1\% \sim 129.4\%$,相对标准偏差在 $0.3\% \sim 15\%$ 之间;由 GC-MS 测定的 67 种农药的平均回收率范围为 $44.9\% \sim 168.1\%$,相对标准偏差在 $0.5\% \sim 20\%$ 之间。方法的检出限范围为 $0.01 \sim 5.00 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。

(3)采用该方法检测了某土壤样品,共检出农药 68 种。该方法具有简便有效、灵敏度高等特点,可以满足土壤中农药多残留检测的需求。

参考文献:

- [1] 国家统计局. 中国统计年鉴年度数据[DB/OL].[2017-01-19]. <http://data.stats.gov.cn/easyquery.htm?cn=C01>.
National Bureau of Statistics. Annual date of China statistical yearbook [DB/OL].[2017-01-19]. <http://data.stats.gov.cn/easyquery.htm?cn=C01>.
- [2] 王万红,王颜红,王世成,等. 辽北农田土壤除草剂和有机氯农药残留特征[J]. 土壤通报, 2010, 41(3): 716-722.
WANG Wan-hong, WANG Yan-hong, WANG Shi-cheng, et al. Residue character of herbicides and organochlorine pesticides in soil in the north of Liaoning[J]. *Chinese Journal of Soil Science*, 2010, 41(3): 716-722.
- [3] 尹可锁,吴文伟,张雪燕,等. 滇池流域农田土壤有机氯农药残留特征[J]. 农业环境科学学报, 2010, 29(4): 674-679.
YIN Ke-suo, WU Wen-wei, ZHANG Xue-yan, et al. Residues characteristics of organochlorine pesticides in the cultivated soils from Dianchi Lake watershed[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2010, 29(4): 674-679.
- [4] 王小飞,刘潇威,王璐,等. 加速溶剂提取-固相萃取净化-高效液相色谱法测定土壤中 12 种三嗪类除草剂的残留量[J]. 农业环境科学学报, 2013, 32(10): 2099-2104.
WANG Xiao-fei, LIU Xiao-wei, WANG Lu, et al. Determination of twelve triazine herbicide residues in soil by high performance liquid chromatography with accelerated solvent extraction and solid-phase extraction[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2013, 32(10): 2099-2104.
- [5] Wu Q H, Wang C, Liu Z M, et al. Dispersive solid-phase extraction followed by dispersive liquid-liquid microextraction for the determination of some sulfonylurea herbicides in soil by high-performance liquid chromatography[J]. *Journal of Chromatography A*, 2009, 1216(29): 5504-5510.
- [6] Merdassa Y, Liu J F, Megersa N. Development of a one-step microwave-assisted extraction method for simultaneous determination of organophosphorus pesticides and fungicides in soils by gas chromatography-mass spectrometry[J]. *Talanta*, 2013, 114(10): 227-234.
- [7] Rashid A, Nawaz S, Barker H, et al. Development of a simple extraction and clean-up procedure for determination of organochlorine pesticides in soil using gas chromatography-tandem mass spectrometry[J]. *Journal of Chromatography A*, 2010, 1217(17): 2933-2939.
- [8] 熊伟娜,夏婷婷,陈景文,等. 土壤中苯线磷及其转化产物对映体的

- 同时分析[J]. 农业环境科学学报, 2014, 33(4): 708-714.
- XIONG Wei-na, XIA Ting-ting, CHEN Jing-wen, et al. Direct enantioselective determination of fenamiphos and its two metabolites in soils using QuEChERS-HPLC[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2014, 33(4): 708-714.
- [9] Alder L, Greulich K, Kempe G, et al. Residue analysis of 500 high priority pesticides; Better by GC-MS or LC-MS/MS?[J]. *Mass Spectrometry Reviews*, 2006, 25(6): 838-865.
- [10] Bossi R, Vejrup K V, Mogensen B B, et al. Analysis of polar pesticides in rainwater in Denmark by liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. *Journal of Chromatography A*, 2002, 957(1): 27-36.
- [11] Ac B D C, Mj L D A, Barceló D, et al. Multianalyte determination of different classes of pesticides (acidic, triazines, phenyl ureas, anilines, organophosphates, molinate and propanil) by liquid chromatography-electrospray-tandem mass spectrometry[J]. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2004, 378(4): 940-954.
- [12] Fillion J, Sauvé F, Selwyn J. Multiresidue method for the determination of residues of 251 pesticides in fruits and vegetables by gas chromatography/mass spectrometry and liquid chromatography with fluorescence detection [J]. *Journal of AOAC International*, 2000, 83(3): 698-713.
- [13] Zhu P, Miao H, Du J, et al. Organochlorine pesticides and pyrethroids in Chinese tea by screening and confirmatory detection using GC-NCI-MS and GC-MS/MS[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2014, 62(29): 7092-7100.
- [14] Sack C, Smoker M, Chamkasem N, et al. Collaborative validation of the QuEChERS procedure for the determination of pesticides in food by LC-MS/MS[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2011, 59(12): 6383-6411.
- [15] Hill A R C, Startin J R, Fussell R J. Quality control procedures for pesticide residues analysis[M]. Brussels: European Commission, 2006: 10232-10233.
- [16] 朱永哲, 冯雅男, 金正汉. 超高效液相色谱-串联质谱法同时测定土壤中 239 种农药的残留量[J]. 色谱, 2013, 31(9): 850-861.
- ZHU Yong-zhe, FENG Ya-nan, KIM J. Determination of 239 pesticide residues in soil by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. *Chinese Journal of Chromatography*, 2013, 31(9): 850-861.
- [17] Mansoori H, Zand E, Baghestani M A, et al. Effect of sulfonylurea herbicides residues on canola, sunflower and cotton: A bioassay approach [J]. *World Journal of Environmental Pollution*, 2012, 2(2): 22-28.
- [18] Acton D F, Gregorich L J. The health of our soils: Toward sustainable agriculture in Canada[M]. Ottawa: Agriculture and Agri-Food Canada, 1995: 88-89.