

三重四极杆质谱测定大豆中咪唑啉酮类除草剂残留量

LCMSMS-113

摘要：本文建立了岛津三重四极杆质谱仪 LCMS-8040 测定大豆中咪唑啉酮类除草剂残留量的分析方法。大豆基质经二氯甲烷提取后，阳离子 SPE 柱净化后，超高效液相色谱 LC-30A 进行梯度洗脱分离，用多反应监测串联质谱进行定性分析，采用外标法建立定量方法。5 种咪唑啉酮类除草剂在 2 ~ 200 $\mu\text{g/L}$ 浓度范围内线性良好，相关系数在 0.9992~0.9999 之间。对低中高不同浓度的混合标准溶液连续 6 次进样进行精密度实验，5 种咪唑啉酮的保留时间和峰面积相对标准偏差分别在 0.061%~0.736% 和 0.73%~4.02% 之间，仪器精密度良好，检出限范围为 0.04~0.08 $\mu\text{g/kg}$ 。考察大豆样品分析及加标实验，5 种咪唑啉酮的回收率范围为 72.0%~106.8%，可以满足大豆中咪唑啉酮类除草剂残留量的检测需求。

关键词：咪唑啉酮 除草剂 大豆 三重四极杆质谱

咪唑啉酮类除草剂高效、广谱、选择性高。目前开发应用比较广的咪唑啉酮类除草剂主要有：咪唑烟酸、甲基咪草烟、咪唑乙烟酸、咪唑喹啉酸、咪草酸甲酯。在我国，这类除草剂主要用于防除豆类、花生、玉米等农作物的田间杂草。其属于长效除草剂，使用量小，但在土壤中的微量残留也会对后茬作物造成药害。

近年来，各国对此类除草剂做出了严格的限量要求。2005 年 7 月，加拿大经过对相关数据审核，确定大豆内的咪唑乙烟酸的最高残留限量为 0.1 mg/kg。2006 年 2 月，美国出台了“G/SPS/N/USA/1229 最终法规”，该法规要求稻米中咪唑乙烟酸总残留限量不得高于 0.3 mg/kg。2006 年 5 月，日本正式实施的“食品残留农业化学品肯定列表制度”对不同食品中咪唑啉酮类除草剂的限量范围为 0.01~0.5 mg/kg。这些新的限量标准的实施，给我国的农产品出口设置了新的技术壁垒，因此建立一种食品中咪唑啉酮类农药残留的简便、准确、高灵敏度的检测方法是迫切而有重要意义的。

本文以二氯甲烷提取，MCX 柱固相萃取净化，使用 LCMSMS，参考《GB/T 23818-2009 大豆中咪唑啉酮类除草剂残留量的测定》，建立了大豆中 5 种咪唑啉酮除草剂残留的分析方法，该方法能有效地减少样品中杂质的干扰，操作简便、快捷，灵敏度高，精密度好，供相关检测人员参考。

实验部分

1.1 仪器

本实验使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 与三重四极杆质谱仪 LCMS-8040 联用系统。具体配置为：LC-30AD \times 2 输液泵，DGU-20A5 在线脱气机，SIL-30AC 自动进样器，CTO-30AC 柱温箱，CBM-

20A 系统控制器，LCMS-8040 三重四极杆质谱仪，LabSolutions Ver. 5.53 色谱工作站。

1.2 分析条件

液相色谱条件

分析仪器：LC-30A 系统

色谱柱：Shimadzu Shim-pack XR-ODS II 2.0
mmI.D. \times 75 mmL., 2.2 μm

流速：0.5 mL/min

进样体积：2 μL

柱温：30 $^{\circ}\text{C}$

流动相：A - 0.1% 甲酸水 B - 0.1% 甲酸乙腈，

洗脱方式：梯度洗脱，B 相初始浓度 20%，梯度洗脱见表 1，

表1 梯度洗脱程序

Time (min)	B.Con.
3.00	30
5.00	60
5.01	90
6.00	90
6.01	20
8.00	stop

质谱条件

分析仪器：LCMS-8040

离子源：ESI，正离子扫描

离子源接口电压：4.5 kV

喷雾针位置：1 mm

雾化气：氮气 2.0 L/min

干燥气：氮气 20 L/min

碰撞气：氩气

脱溶剂管温度：200℃

驻留时间：50 ms

加热模块温度：300℃

延迟时间：3 ms

扫描模式：多反应监测（MRM）

MRM 参数：见表 2

表2 MRM参数

化合物名称	英文名称	CAS号	前体离子	产物离子	Q ₁ Pre Bias (V)	CE (V)	Q ₃ Pre Bias (V)
咪唑烟酸	imazapyr acid	81334-34-1	262.10	217.15*	-30	-18	-23
				220.00	-30	-17	-22
甲基咪草烟	imazameth	104098-48-8	276.10	234.10*	-30	-18	-16
				216.10	-30	-22	-22
咪草酸甲酯	Imazamethabenz -methyl	81405-85-8	289.20	229.20*	-30	-20	-16
				257.10	-30	-16	-18
咪唑乙烟酸	imazethapyr	81335-77-5	290.10	230.10*	-30	-19	-26
				248.10	-30	-23	-24
咪唑喹啉酸	imazaquin	81335-37-7	312.10	270.10*	-30	-20	-19
				252.10	-30	-25	-26

*表示定量离子

1.3 样品制备

1.3.1 样品前处理方法

提取：准确称取大豆样品 5 g，置于 50 mL 具塞离心管中，加入 35 mL 二氯甲烷，涡旋 2 后置于振荡器上振荡提取 20 min，以 4000 r/min 速度离心 5 min，取上层清液并经二氯甲烷润湿的滤纸过滤后，收集 100 mL 梨型瓶中。再向残余试样中加入 35 mL 二氯甲烷，重复上述操作。再用 10 mL 二氯甲烷分 3-5 次洗涤离心管和滤纸，合并洗涤液于梨形瓶中，与 40 °C 水浴中旋转蒸干。

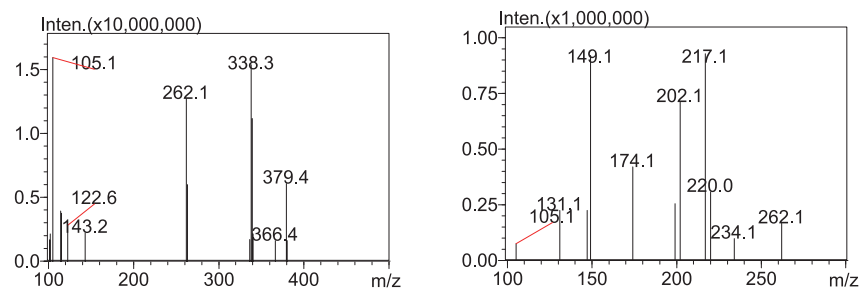
净化：用 3 mL 甲醇预洗 MCX 柱，再用 5 mL 0.1% 盐酸甲醇分两次（3 mL+2 mL）洗涤梨形瓶，将洗液转移至 MCX 固相萃取柱。再依次用 3 mL 丙酮、3 mL 乙腈、3 mL 甲醇在淋洗柱子，用 3 mL 5% 氨水 - 甲醇（体积比 5 : 95）洗脱，收集洗脱液于玻璃管中，在 45°C 水浴上用氮气小心吹干，然后用 1 mL 乙腈溶解并定容，过 0.45 μm 有机相滤膜后进行上样分析。

1.3.2 标准溶液配制

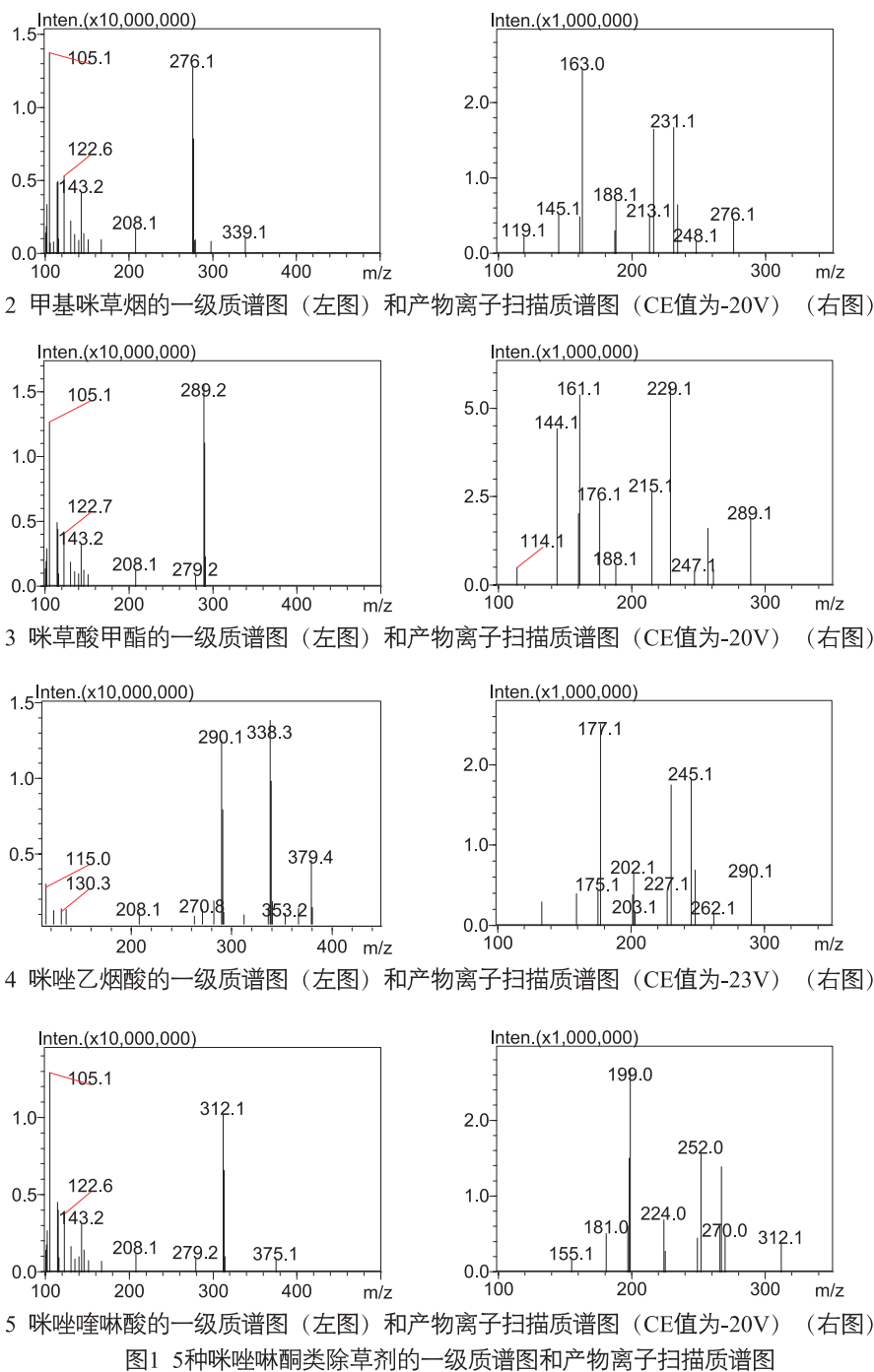
用乙腈配制 1.0 mg/L 的混合标准中间溶液，用乙腈溶液稀释成浓度为 2, 5, 10, 20, 50, 100, 200 μg/L 标准工作液。

结果讨论

2.1 标准样品一级质谱图和产物离子扫描质谱图



1 咪唑烟酸的一级质谱图（左图）和产物离子扫描质谱图（CE值为-20V）（右图）



2.2 空白基质标准溶液的 MRM 色谱图

空白基质标准溶液 MRM 色谱图如图 2 所示。

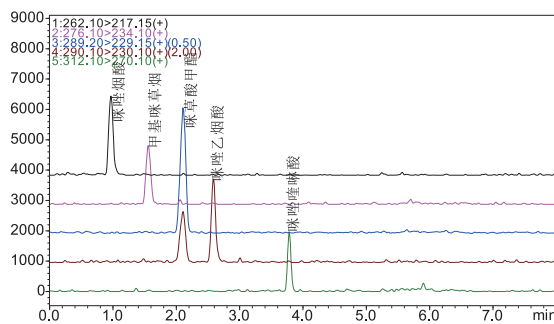


图2 5 µg/L混合标准溶液的MRM色谱图

2.3 线性关系

按 1.2 中的分析条件进行测定，以浓度为横坐标，峰面积为纵坐标，以 2, 5, 10, 20, 50, 100, 200 $\mu\text{g/L}$ 为浓度点，采用外标法建立校准曲线，如图 3 所示，5 种咪唑啉酮类除草剂线性浓度范围内线性相关性良好，相关系数均在 0.9992~0.9999 之间，软件自动计算检出限和定量限见表 4。

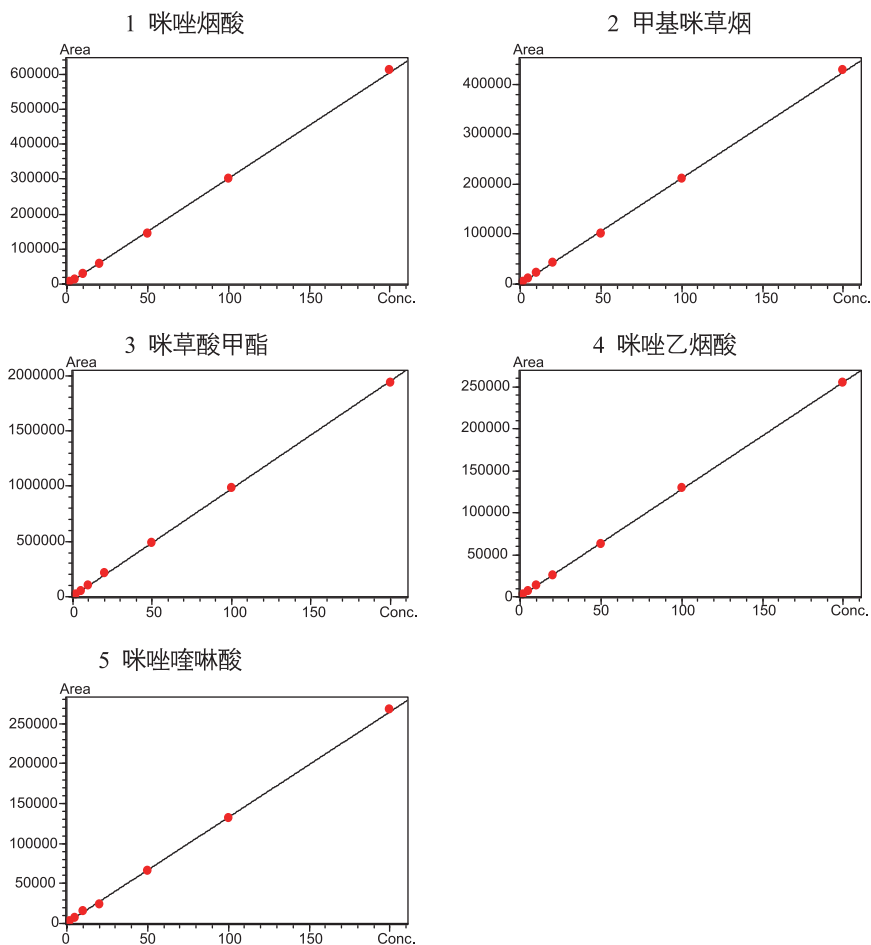


图3 5种咪唑啉酮类除草剂的标准工作曲线

表3 5种咪唑啉酮类除草剂的校准曲线参数

编号	名称	校准曲线	线性范围 ($\mu\text{g/L}$)	相关系数 (R)	检出限 ($\mu\text{g/L}$)	定量限 ($\mu\text{g/L}$)
1	咪唑烟酸	$Y = (3031.72)X + (-1246.57)$	2-200	0.9997	0.37	1.13
2	甲基咪草烟	$Y = (2125.07)X + (-473.326)$	2-200	0.9997	0.36	1.08
3	咪草酸甲酯	$Y = (9732.71)X + (1732.62)$	2-200	0.9998	0.21	0.63
4	咪唑乙烟酸	$Y = (1275.84)X + (142.708)$	2-200	0.9999	0.39	1.17
5	咪唑啉啞酸	$Y = (1321.47)X + (680.090)$	2-200	0.9992	0.33	1.00

2.4 精密度实验

配制低中高不同浓度的混合标样依次进样，平行测定 6 次，5 种物质的保留时间相对标准偏差和峰面积的相对标准偏差分别在 0.061%~0.736% 和 0.73%~4.02% 之间，结果表明系统具有良好的精密度。

表5 保留时间和峰面积重复性结果 (n=6)

样品名称	RSD% (2 µg/L)		RSD% (50 µg/L)		RSD% (200 µg/L)	
	R.T.	Area	R.T.	Area	R.T.	Area
咪唑烟酸	0.310	3.12	0.222	2.16	0.205	0.89
甲基咪草烟	0.379	4.38	0.170	1.80	0.224	2.69
咪草酸甲酯	0.736	2.58	0.245	3.84	0.102	2.40
咪唑乙烟酸	0.578	4.01	0.203	2.20	0.107	2.15
咪唑喹啉酸	0.284	4.02	0.099	1.98	0.061	0.73

2.5 实际样品分析及回收率实验

将所建立的分析方法用于实际样品分析, 检测大豆样品, 均未检测到这 5 种咪唑啉酮类除草剂。图 4 为大豆样品的 MRM 色谱图。在此大豆中添加浓度为 0.4 µg/kg 的混合标准溶液, 加标 MRM 色谱图如图 5 所示, 加标回收率结果见表 6。

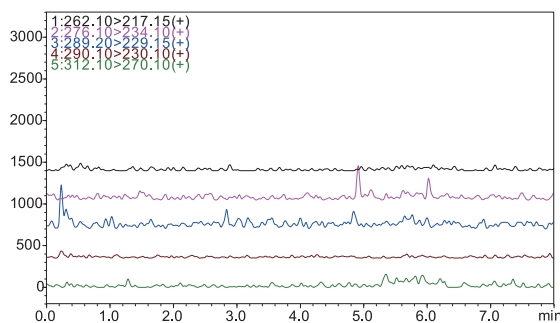


图4 大豆样品的MRM色谱图

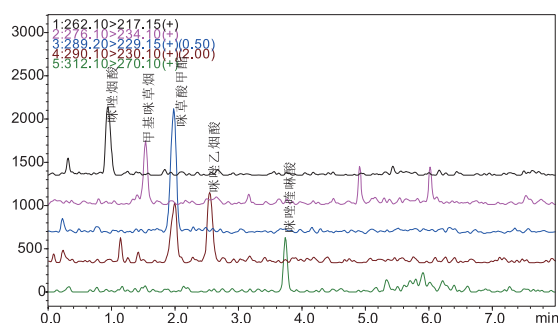


图5 大豆基质0.4 µg/kg加标的MRM色谱图

表6 5种咪唑啉酮类除草剂检测与加标回收结果

编号	名称	检测浓度 (µg/kg)	理论浓度 (µg/kg)	实测浓度 (µg/kg)	回收率 (%)
1	咪唑烟酸	N.D.	0.4	0.36	90.8
2	甲基咪草烟	N.D.	0.4	0.43	106.8
3	咪草酸甲酯	N.D.	0.4	0.31	78.1
4	咪唑乙烟酸	N.D.	0.4	0.32	78.9
5	咪唑喹啉酸	N.D.	0.4	0.29	72.0

注: N.D.表示未检出

结论

本文建立了一种使用岛津三重四极杆质谱仪 LCMS-8040 测定大豆中 5 种咪唑啉酮类除草剂。5 种咪唑啉酮类除草剂线性范围宽, 在 2 ~ 200 µg/L 浓度范围内线性良好, 相关系数在 0.9992~0.9999 之间。对低中高不同浓度的混合标准溶液进行精密度实验, 连续 6 次进样保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.061%~0.736% 和 0.73%~4.02% 之间, 仪器精密度良好, 检出限范围为 0.04~0.08 µg/kg。考察大豆样品分析及加标实验, 5 种咪唑啉酮的回收率范围为 72.0%~106.8%, 可以满足大豆中咪唑啉酮类除草剂残留量的检测需求。