

LC-MS/MS 测定面粉中草甘膦及其代谢物残留量

LCMSMS-835

摘要： 本文使用岛津三重四极杆液质联用仪建立了面粉中草甘膦及其代谢物测定的方法。实验结果表明，在 0.5-10 ng/mL 浓度范围内，方法线性良好，线性相关系数 R 均大于 0.999，曲线各浓度点准确度在 91.1%-107.4% 之间。1.0 ng/mL 浓度对照品溶液，连续进样 6 次，保留时间和峰面积的相对标准偏差 (RSD%) 分别在 0.07-0.12% 和 3.23-3.57% 之间。10、40 和 200 µg/kg 三个不同浓度加标回收率在 84.9%-93.5% 之间，平行三份样品的相对标准偏差 (RSD%) 在 2.8%-4.5% 之间。该方法简单，稳定，准确，供相关人员参考。

关键词： 三重四极杆液质联用仪 面粉 草甘膦及其代谢物

技术特点：

- ❖ 使用 SHIMSEN Styra MCX 固相萃取小柱净化、聚丙烯小瓶进样，回收率高。
- ❖ 使用 Shim-pack GISS-HP C18 (Metal free column) 色谱柱，10 min 完成一针分析，简单快速。

草甘膦，化学名称为 N-(磷酸甲基)甘氨酸，在 1974 年由美国孟山都公司将其引入市场，是一种内吸传导型广谱灭生性有机磷类除草剂。其除草机制主要是通过抑制植物体内的烯醇丙酮基莽草素磷酸合成酶，从而抑制莽草素向苯丙氨酸、酪氨酸及色氨酸的转化，使蛋白质合成受到干扰，导致植株死亡。目前，草甘膦已成为世界上应用最广泛的除草剂之一。随着草甘膦的大量使用，残留于植物或环境中的草甘膦及其代谢物通过生物富集作用进入食物链，对人体产生潜在的健康风险。2017 年，世界卫生组织国际癌症研究机构将草甘膦列在 2A 类致癌物清单中。因此，加强对食品中草甘膦及其代谢物的检测和监管至关重要。

目前国内外草甘膦及其代谢物氨甲基磷酸测定的

方法主要包括液相色谱法、离子色谱法和超高效液相色谱-质谱联用法等。例如，CJ/T 141-2018《城镇供水水质标准检验方法》采用离子色谱法测定城镇供水及水源水中草甘膦；GB/T 5750.9-2023《生活饮用水标准检验方法》第 9 部分采用柱后衍生高效液相色谱法及离子色谱法检测生活饮用水中草甘膦。现行检测方法经常存在基质效应干扰大、检出限高、前处理繁琐及假阳性等情况。因此，亟待建立一种简单可靠的检测方法。

本文采用岛津三重四极杆液质联用仪，建立了一种面粉中草甘膦及其代谢物氨甲基磷酸测定的方法，该方法简单，稳定，灵敏度高，回收率高，供相关检测人员参考。

■ 实验部分

1.1 仪器

系统控制器：CBM-40
输液泵：LC-40D XS
柱温箱：CTO-40S
质谱检测器：LCMS-8050

脱气机：DGU-405
自动进样器：SIL-40C XS
色谱工作站：LabSolutions Ver. 5.118

1.2 分析条件

液相色谱条件

色 谱 柱 : Shim-pack GISS-HP C18 (Metal free column) (150 mm × 2.1 mm I.D., 3 μm),
P/N:227-30924-03, 岛津(上海)实验器材有限公司

流 动 相 : A相 -5 mM 乙酸铵水溶液; B相 - 乙腈

流 速 : 0.3 mL/min 进 样 体 积 : 10 μL

柱 温 : 40°C 进 样 器 温 度 : 15°C

洗 脱 方 式 : 梯度洗脱, B相初始浓度为 10%, 时间程序见表 1。

表 1 梯度洗脱时间程序

Time(min)	Module	Command	Value
5.00	Pumps	Pump B Conc.	50
6.00	Pumps	Pump B Conc.	95
7.00	Pumps	Pump B Conc.	95
7.10	Pumps	Pump B Conc.	10
10.00	Controller	Stop	

质谱条件

离 子 源 : ESI (+) 加 热 模 块 温 度 : 400°C

接 口 电 压 : 4 kV 接 口 温 度 : 300°C

雾 化 气 流 速 : 3.0 L/min 碰 撞 气 : 氦气

加 热 气 流 速 : 10.0 L/min 扫 描 模 式 : 多反应监测 (MRM)

干 燥 气 流 速 : 10.0 L/min MRM 参 数 : 见表 2

D L 温 度 : 250°C

表 2 MRM 参数

序号	名称	CAS 号	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bias(V)	CE(V)	Q3 Pre Bias(V)
1	草甘膦	1071-83-6	391.9	88.0*	-10.0	-24.0	-18.0
				179.2	-10.0	-24.0	-19.0
2	氨甲基磷酸	1066-51-9	333.9	179.2*	-13.0	-22.0	-13.0
				112.3	-13.0	-14.0	-22.0

注: * 表示定量离子

1.3 标准品及样品制备

标准储备溶液: 分别准确称取 1 mg 草甘膦、氨甲基磷酸于 1 mL 聚丙烯容量瓶中, 用水溶解并定容至刻度, 配制浓度为 1 mg/mL 的标准储备液。草甘膦在矿物和玻璃表面有强吸附作用, 应尽量避免使用玻璃容器。

校准工作曲线: 分别吸取适量的标准储备溶液, 加至空白样品基质中, 按下述样品制备过程进行同步前处理, 制成浓度为 0.5 ng/ml、1.0 ng/mL、2.0 ng/mL、5.0 ng/mL、10 ng/mL 的系列标准工作液。

样品制备: 称取样品 1.0 g 加入到 50 mL 塑料离心管中, 加 10 mL 水和 10 mL 二氯甲烷, 手动振摇 1 min, 超声 20 min, 8000 rpm 下离心 3 min, 取 6 mL 上清液, 待净化。依次用 10 mL 甲醇、10 mL 水对 SHIMSEN Styra MCX 固相萃取小柱活化、平衡, 弃去流出液。取 3 mL 待净化液上样, 弃去流出液; 再取 2 mL 待净化液上样, 收集流出液, 混匀, 待衍生。取上述流出液 500 μL, 加 200 μL 5% 硼酸盐 (Na₂B₄O₇ · 10H₂O) 溶液, 涡旋混匀 1 min, 加 300 μL 衍生剂 9- 苄基三氯甲烷 (FMOCCl) 溶液 (浓度为 1.0 mg/mL, 样品溶剂为乙腈), 涡旋混匀 1 min, 室温衍生过夜, 衍生液过 0.22 μm 微孔滤膜于聚丙烯小瓶中, 进 LC-MS/MS 分析。

■ 结果与讨论

2.1 色谱图

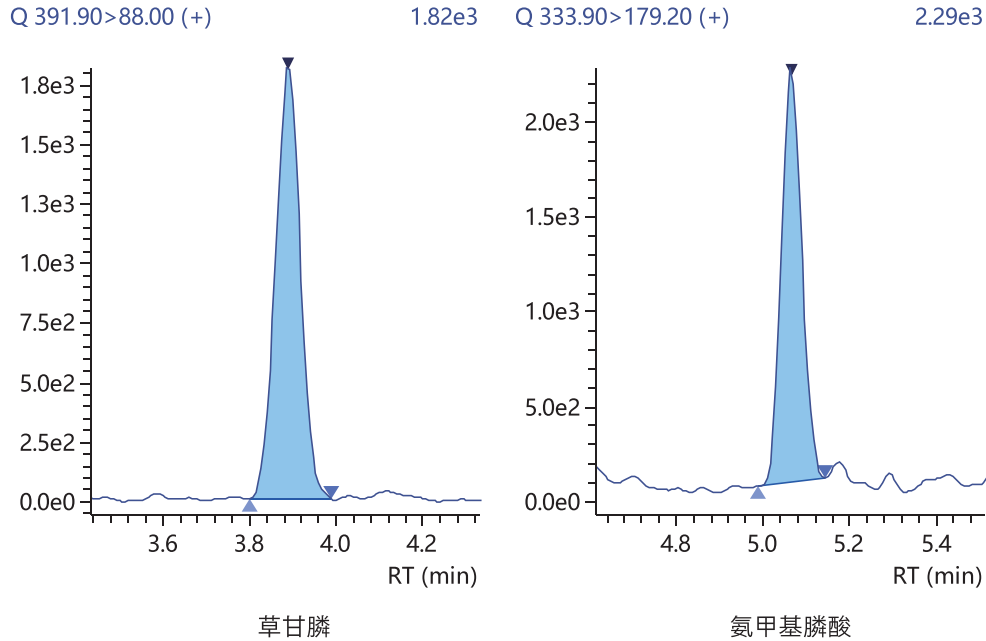


图1 草甘膦、氨基甲基膦酸面粉基质标准品衍生物溶液 MRM 色谱图 (2.0 ng/mL)

2.2 校准曲线、重复性结果

按照 1.3 制备标准系列工作溶液，使用外标法拟合工作曲线，校准曲线见图 2。1.0 ng/mL 浓度对照品溶液，连续进样 6 次，考察保留时间和峰面积的重复性。线性范围、各浓度点线性回归的准确度、相关系数、重复性等结果见表 3。曲线各标点准确度在 91.1%-107.4%，线性相关系数 R 均在 0.999 以上。保留时间和峰面积的相对标准偏差 (RSD%) 分别在 0.07-0.12% 和 3.23-3.57% 之间，方法精密度良好。

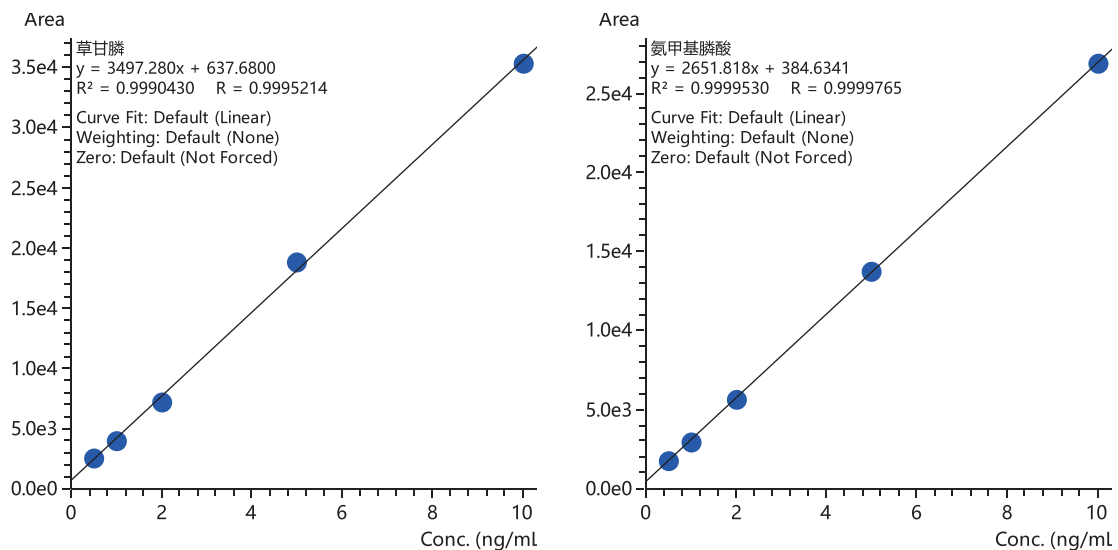


图2 草甘膦、氨基甲基膦酸面粉基质校准曲线

表3 校准曲线、重复性结果

No.	化合物名称	线性范围 (ng/mL)	准确度 (%)	相关系数 R	RSD% (1.0 ng/mL)	
					R.T.	Area
1	草甘膦	0.5-10	93.0-107.4	0.9995	0.12	3.23
2	氨基磷酸	0.5-10	91.1-105.3	0.9999	0.07	3.57

2.3 加标回收率及重复性考察

取面粉空白基质，按照 1.3 前处理方法，对样品进行低、中、高三个浓度水平加标回收率考察。每个浓度平行制备三份样品，进行重复性考察。低、中、高三个加标浓度分别为 10、40 和 200 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。三水平加标回收率及重复性结果见表 4。

表4 回收率结果 (n=3)

No.	名称	10 $\mu\text{g}/\text{kg}$		40 $\mu\text{g}/\text{kg}$		200 $\mu\text{g}/\text{kg}$	
		回收率 (%)	RSD (%)	回收率 (%)	RSD (%)	回收率 (%)	RSD (%)
1	草甘膦	84.9	4.5	91.3	3.9	92.6	3.2
2	氨基磷酸	86.4	4.0	89.9	2.8	93.5	3.7

■ 结论

本文使用岛津三重四极杆液质联用仪 LCMS-8050 建立了面粉中草甘膦及其代谢物氨基磷酸测定的方法。在 0.5-10 ng/mL 浓度范围内，方法线性良好，线性相关系数 R 均大于 0.999。对样品进行 10、40 和 200 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 三个浓度加标回收实验，回收率在 84.9%-93.5% 之间。该方法灵敏度高，定量准确度高，前处理简便，适用于面粉中草甘膦及其代谢物氨基磷酸的检测。

岛津应用云

