

直接进样法-超高效液相色谱串联质谱法测定 黑龙江流域水中 10 种农药残留

赵 岚^{1*}, 王 淼^{1,2}, 王晓婧¹, 王 缘¹, 李健平¹, 金惠玉^{2*}

(1. 黑龙江省疾病预防控制中心, 哈尔滨 150030; 2. 黑龙江东方学院, 哈尔滨 150066)

摘 要: **目的** 建立直接进样-超高效液相色谱串联质谱法(ultra high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry, UPLC-MS/MS)测定黑龙江流域水中 10 种农药残留的分析方法。**方法** 水样无需富集, 经 0.22 μm 微孔滤膜过滤后, 超高效液相色谱分离, 动态多反应监测模式(dynamic multi reaction monitoring, DMRM)质谱分析, 基质匹配标准曲线外标法定量。**结果** 10 种农药的检出限($S/N=3$)在 0.1~3.0 $\mu\text{g/L}$ 之间, 定量限($S/N=10$)在 0.2~5.0 $\mu\text{g/L}$ 之间, 在各自线性范围内, 具有良好的线性关系($r\geq 0.997$), 在 5.0、10.0 和 50.0 $\mu\text{g/L}$ 3 个添加水平下平均回收率在 78.0%~109.9%之间, 相对标准偏差(relative standard deviation, RSD)小于 20%($n=6$)。**结论** 该方法简单、快速、灵敏度高, 在 10 min 内完成 10 种农药的检测分析, 可用于流域水中多种农药残留的快速检测。

关键词: 直接进样; 水; 农药; 超高效液相色谱串联质谱法

Determination of 10 kinds of pesticide residues by direct injection-ultra high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry in Heilongjiang river

ZHAO Lan^{1*}, WANG Miao^{1,2}, WANG Xiao-Jing¹, WANG Yuan¹, LI Jian-Ping¹, JIN Hui-Yu^{2*}

(1. Heilongjiang Provincial Center for Disease Control and Prevention, Harbin 150030, China;
2. Heilongjiang Oriental College, Harbin 150066, China)

ABSTRACT: Objective To establish a method for the determination of 10 kinds of pesticides in Heilongjiang river water by direct injection-ultra high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry in river water. **Methods** The 10 target compounds were separated by ultra performance liquid chromatography, analyzed by dynamic multiple reaction monitoring mode (DMRM) mass spectrometry, matrix matched standard and quantified by external standard solution. **Results** The limits of detection of 10 pesticides ($S/N=3$) were in the range of 0.1–3 $\mu\text{g/L}$, the limits of quantitative ($S/N=10$) were 0.2–5.0 $\mu\text{g/L}$. In the scope of their respective linear, 10 kinds of pesticides had a good linear relationship ($r=0.997$), the average recoveries were in the range of 78.0%–109.9% at 5.0, 10.0,

基金项目: 黑龙江省卫生计生委科研课题(2018-553)、黑龙江东方学院院级课题(HDFHX160109)

Fund: Supported by Heilongjiang Scientific Research Project (2018-553) and School-level project at Heilongjiang Oriental Institute (HDFHX160109)

***通讯作者:** 赵岚, 博士, 主任医师, 主要研究方向为食品安全检测。E-mail: zhaolan75@163.com

金惠玉, 高级工程师, 主要研究方向为仪器分析和食品分析。E-mail: 40123797@qq.com

***Corresponding author:** ZHAO Lan, Ph.D, Chief Physician, Heilongjiang Center for Disease Control and Prevention, No 40, Youfang Road, Xiangfang District, Harbin 150030, China. E-mail: zhaolan75@163.com

JIN Hui-Yu, Senior Engineer, Heilongjiang Oriental College, Harbin 150066, China. E-mail: 40123797@qq.com

50.0 $\mu\text{g/L}$ 3 concentration, the relative standard deviations (RSDs) less than 20% ($n=6$). **Conclusion** This method is simple, fast and sensitive. It can be used for the analysis and detection of 10 kinds of pesticides in 10 min, which can be used for rapid detection of pesticide residues in river water.

KEY WORDS: direct injection; water; pesticide; ultra high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry

1 引言

我省受气候条件及自然条件的影响,杂草发生面积大,同时也受到农作物病虫害的威胁,为提高农作物生产产量,在农业生产过程中往往使用大量的除草剂和杀虫剂,这些农药通过降雨、刮风、湿沉降等多种形式扩散到空气、土壤和地下水中,并通过地表径流等途径进入江河湖泊,污染饮用水源,对环境和人体健康造成伤害^[1-4]。世界各国和相关国际组织都对饮用水中农药残留制定了严格的限值,GB 3838-2002《地表水环境质量标准》中对一些特定农药也做出了排放量限值,来规范和限制农药的使用。为此结合我省的应用农药的特点,选取除草剂代表性农药(莠去津、丁草胺、乙草胺、苯噻酰草胺)和杀虫剂代表性农药:有机磷类(三唑磷、氧化乐果、毒死蜱、乙酰甲胺磷、敌敌畏),及氨基甲酸酯类(异丙威)进行研究。

由于地表水中农药残留浓度很低,检测方法包括气相色谱法(gas chromatography, GC)^[5,6]、液相色谱法(liquid chromatography, LC)^[7]、气相色谱质谱法(gas chromatography mass spectrometry, GC-MS)及液相色谱-串联质谱法(liquid chromatography tandem mass spectrometry, LC-MS)等^[8,9],但往往这些方法都需要对地表水中残留的农药进行分离、富集预处理^[10-13],前处理过程冗长,试剂用量大,对实验人员身体造成影响,鲜有文献报道应用超高效液相色谱串联质谱法直接进样获得多种农残的含量^[14-16]。故本研究建立一种直接进样-超高效液相色谱串联质谱法测定水域中10种农药残留的分析方法。

本文主要针对我省在大量使用农药情况下,检测和监测我省地表水中农药分布情况,了解我省地表水,主要是流域水中是否有污染,及时掌握我省水环境的影响状态、残留水平、可能带来的危害程度,为进一步我省地表水农药污染调查提供技术支撑,为提高我省饮用水水质管理提供更为确切的研究依据。

2 材料与方法

2.1 仪器与试剂

6460C 超高效液相色谱三重四级杆串联质谱联用仪(美国 Agilent 公司);手动单道移液枪(美国 RAININ 公司);Allegra X-15R 离心机(德国 Beckman Coulter 公司);水系尼龙微孔滤膜(0.22 μm , 中国 Dikma 公司)。

毒死蜱、莠去津、丁草胺、乙草胺、苯噻酰草胺、异丙威、三唑磷、氧化乐果、乙酰甲胺磷和敌敌畏(纯度均大于96%,德国 Dr.Ehrenstorfer 公司);甲醇、乙腈(色谱纯,德国 Merck 公司);甲酸(色谱纯,中国 DiKmapure 公司);液质水(德国 CNW 公司)。

标准储备液:分别称取10 mg(精确到0.00001 g)各农药标准品,用甲醇分别溶解,定容至10 mL,配制成1.0 mg/mL的单标储备液,分别准确吸取10种单标储备液100 μL 于10 mL容量瓶中,用甲醇定容至刻度线,配制成10.0 $\mu\text{g/mL}$ 的混标储备液,储存于4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱中。

基质标准曲线:精密吸取10.0 $\mu\text{g/mL}$ 的混标储备液适量,配制成浓度分别为0.5、5.0、10.0、50.0、75.0、100.0 $\mu\text{g/L}$ 系列基质匹配曲线,用2.2.1处理后的空白水样定容。

2.2 实验方法

2.2.1 水样的采集及储存

水样采集过程中,要求在顺直河段、河床稳定、水流平稳、无浅滩处,远离各污染源头的地方选择采样点,在距岸边1~2 m,水深20~50 cm深度处,不搅动水底的沉积物进行水样采集。同一采样点每隔0.5 h采样1次,每次采取500 mL水样,总采样次数不少于8次,将所取水样混合均匀,分装至1 L磨口硬质棕色玻璃瓶中,并加入适量的抗坏血酸,做好标记。样品采集后密封冷藏运输,4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱储存,当天送达实验室,24 h内检测分析。

2.2.2 样品的测定

(1)样品的处理

直接取水样样品,经水系尼龙0.22 μm 微孔滤膜过滤,装入进样小瓶中直接UPLC-MS/MS分析。

(2)色谱条件

Agilent Eclipse Plus C_{18} 色谱柱(3.0 mm $\times$ 50 mm, 1.8 μm),柱温:40 $^{\circ}\text{C}$;流动相:A:甲醇;B:0.1%甲酸+5 mmol/L 乙酸铵水溶液;流速:0.3 mL/min;进样量:5 μL ;流动相梯度见表1。

(3)质谱条件

离子源:电喷雾离子源(electron spray ionization, ESI);检测方式:动态多反应监测(dynamic multi reaction monitoring, DMRM);采用 ESI^+ 模式;毛细血管电压:3000 W(正、负源);干燥气温度:220 $^{\circ}\text{C}$;干燥气流速:14 L/min;鞘气温度:350 $^{\circ}\text{C}$;碰撞气流速:11 L/min;定量方式:外标法定量。质谱参数见表2。

表 1 UPLC 梯度洗脱条件
Table 1 Gradient elution phase for ultra performance liquid chromatography

时间/min	A/%	B/%
0	10	90
1	20	80
2	60	40
4	60	40
6	70	30
8	95	5
9.5	10	90
10	10	90

3 结果与分析

3.1 质谱条件优化

配制 1 μg/mL 的各农药单标储备液进行质谱条件优化: 在 SCAN 模式下, 选择电喷雾离子源(AJESI), 对各农药进

行全扫描(MS2 scan), 获得相应的母离子, 再经子离子质谱分析扫描, 获得碎片离子, 根据离子丰度比选择定量、定性离子, 并对其对应的碰撞电压等参数进行优化, 从而获得最优的 MRM 模式质谱分析条件, 优化各个化合物的保留时间信息, 建立 10 种农药的 DMRM 质谱检测方法, 质谱参数见表 2, 10.0 μg/L 的农药基质混合标准溶液提取的 MRM 色谱图见图 1。

3.2 色谱条件优化

3.2.1 流动性的选择

实验比较了甲醇-水(a)体系、甲醇-0.1%的甲酸水(b)体系和甲醇-0.1%甲酸 5 mmol/L 的乙酸铵水溶液(c)体系分别作为流动相, 对 10 种农药的峰面积、峰型、灵敏度等方面的影响。结果显示, (a)体系作为流动相时, 乙酰甲胺磷和氧化乐果出现前沿峰的情况, 而(b)体系在水相中加入 0.1%甲酸, 有效改善了这种情况。比较(b)、(c)流动相体系, 化合物的分离度和峰型没有大的差别, 但是在(c)体系下丁草胺、乙草胺、莠去津等农药的响应值明显提高。所以本方法选择(c)体系作为流动相。

表 2 DMRM 监测模式下 10 种农药的质谱采集参数
Table 2 The MS/MS parameters of 10 pesticides in DMRM mode

序号	名称	保留时间/min	检测离子对(m/z)	离子源	碰撞电压/V
1	乙酰甲胺磷	1.93	206>164.7a, 206>116.9	ESI ⁺	5, 10
2	氧化乐果	2.13	214>182.9a, 214>125	ESI ⁺	10, 5
3	敌敌畏	3.57	221>108.8a, 221>145.1	ESI ⁺	15, 10
4	异丙威	4.49	194.1>95a, 194.1>136.9	ESI ⁺	15, 5
5	莠去津	4.59	216>174a, 216>96.1	ESI ⁺	20, 25
6	苄嘧磺隆	5.32	411>149a, 411>181.8	ESI ⁺	30, 20
7	三唑磷	6.93	314>161.9a, 314>286	ESI ⁺	25, 10
8	乙草胺	7.38	270>223.9a, 270>148.1	ESI ⁺	10, 15
9	丁草胺	8.96	312.1>238.1a, 312.1>162	ESI ⁺	10, 20
10	毒死蜱	9.06	350>197.8a, 350>152.9	ESI ⁺	15, 10

注: a 代表定量离子。

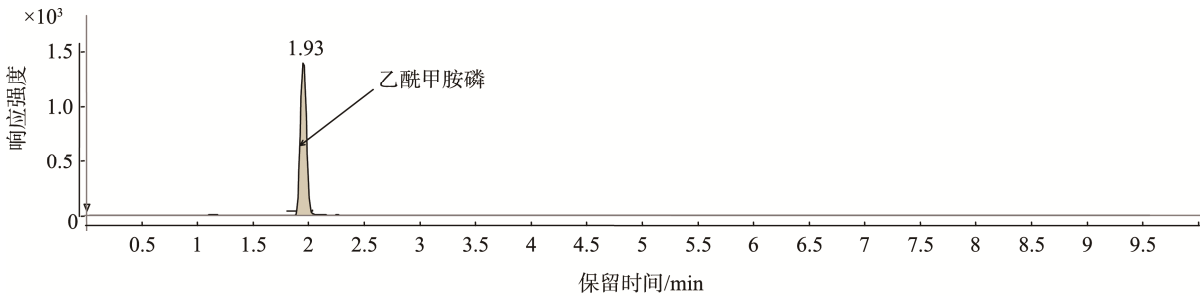
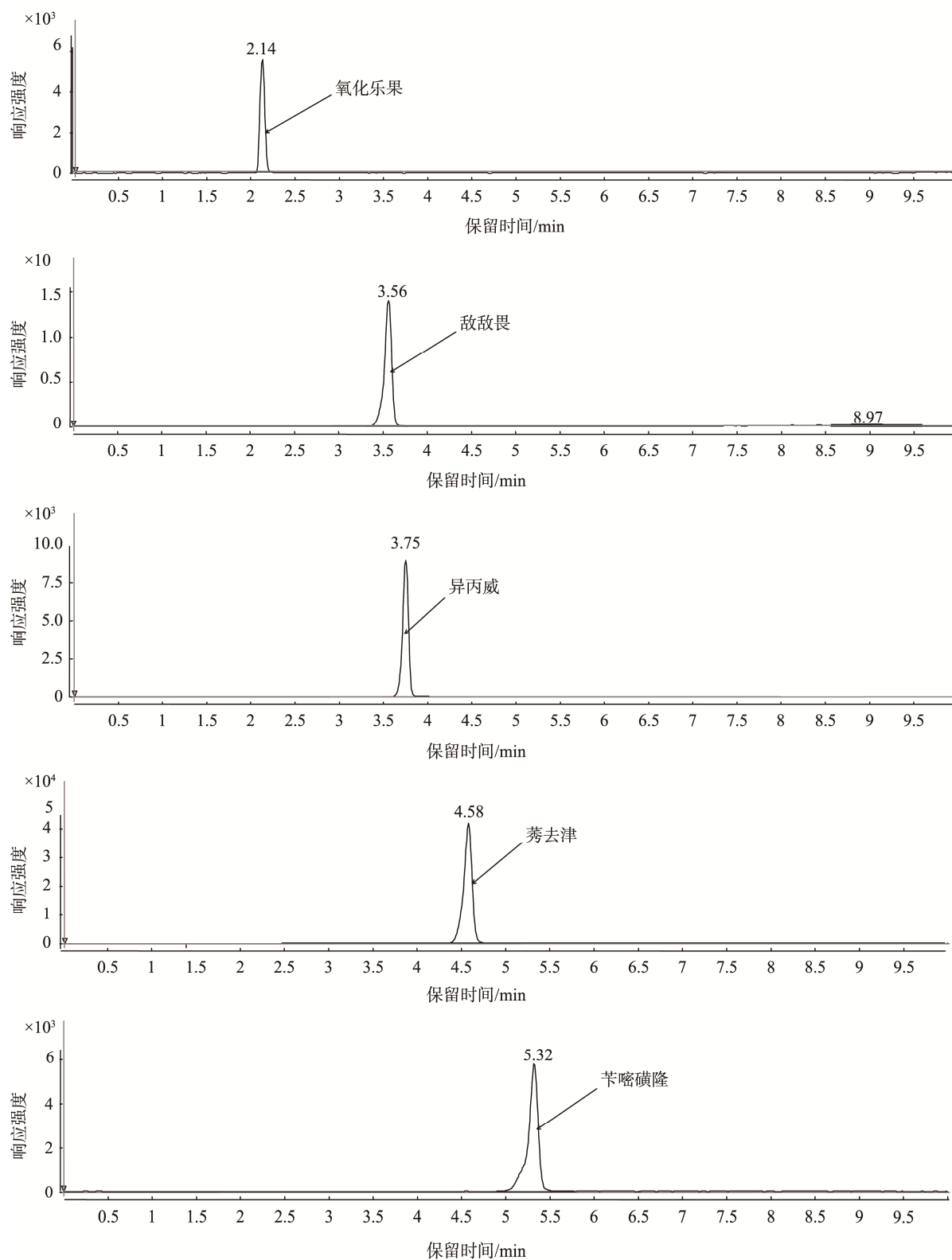
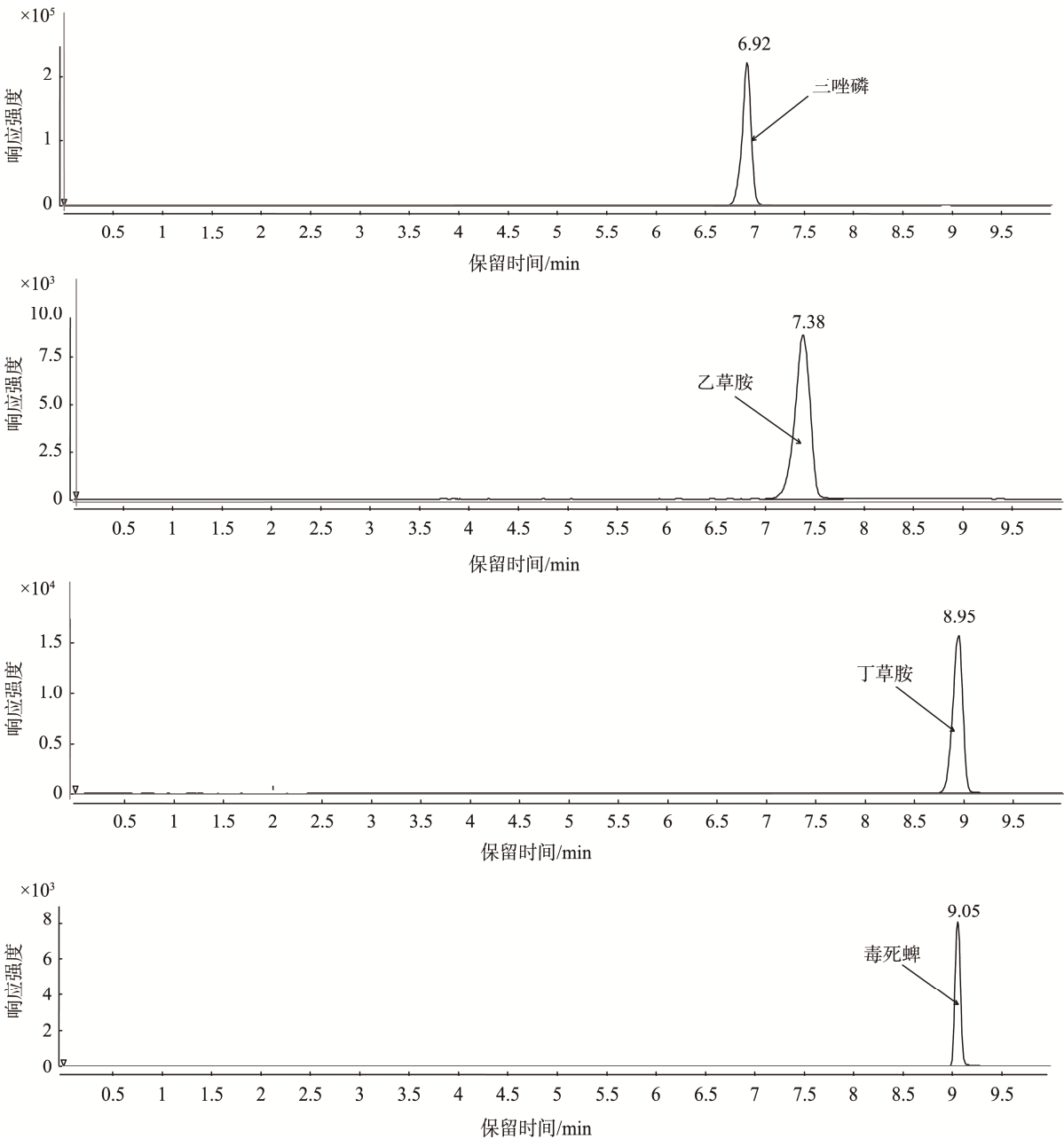


图 1 10 μg/L 的农药基质混合标准溶液提取的 MRM 色谱图
Fig.1 MRM chromatogram for presidents the matrix mixture standard solution for 10.0 μg/L

续图 1 10 $\mu\text{g/L}$ 的农药基质混合标准溶液提取的 MRM 色谱图Fig.1 MRM chromatogram for presidents the matrix mixture standard solution for 10.0 $\mu\text{g/L}$



续图 1 10 $\mu\text{g/L}$ 的农药基质混合标准溶液提取的 MRM 色谱图
Fig.1 MRM chromatogram for presidents the matrix mixture standard solution for 10.0 $\mu\text{g/L}$

3.2.2 流动相梯度优化

实验比较了 3 种流动相梯度洗脱条件, 结果发现, 使用梯度 1 时, 10 min 内完成 10 种农药分析, 各化合物出峰时间分布均匀, 分离度较好, 使用梯度 2、3 时, 7 min 内完成分析, 但异丙威和莠去津出峰时间接近, 分离度不好, 所以选择梯度 1 作为流动相洗脱程序。3 种梯度程序见表 3。

3.3 线性方程及检出限

以空白水样配制各化合物的基质标准溶液, 按照上

述仪器条件进行测定。以各目标化合物的浓度为横坐标, 以定量离子对应的色谱峰面积为纵坐标绘制工作标准曲线, 结果表明, 乙酰甲胺磷、异丙威、敌敌畏在 5.0~100.0 $\mu\text{g/L}$ 浓度范围内, 其他化合物在 0.5~100.0 $\mu\text{g/L}$ 浓度范围内都具有良好的线性关系, 相关系数 $r \geq 0.997$ 。

采用空白基质加标实验, 以 3 倍信噪比($S/N=3$)估算方法的检出限(limits of detection, LOD), 以 10 倍信噪比($S/N=10$)估算方法的定量限(limits of quantification, LOQ), 线性方程、检出限、定量限结果见表 4。

表 3 3 种流动相梯度洗脱程序
Table 3 Gradient elution program of optimizing

时间 /min	洗脱程序 1		洗脱程序 2		洗脱程序 3	
	A/%	B/%	A/%	B/%	A/%	B/%
0	10	90	10	90	10	90
1	20	80	20	80	20	80
2	60	40	60	40	60	40
4	60	40	80	20	90	10
6	70	30	90	10	95	5
8	95	5	95	5	10	90
9.5	10	90	10	90		
10	10	90	10	90		

3.4 加标回收率及精密度

以空白水样进行 5.0、10.0、50.0 μg/L 3 个浓度水平的基质加标实验, 分别测定 6 次, 计算相对标准偏差和回收率, 10 种农药回收率范围为 78.0%~109.9%, 相对标准偏差在 0.3%~8.1%之间。结果见表 5。

3.5 实际样品的检测

应用所建立的方法, 对我省黑龙江流域采集水样 20 份, 松花江流域采集水样 42 份进行 10 种农残的检测, 62 份水样中, 所选除草剂类农药及氨基甲酸类杀虫剂农药均未检出, 有机磷类农药除三唑磷有 2 份松江将水域检出外, 其余也均未检出, 2 份检出的三唑磷含量分别为 0.22 μg/L, 0.28 μg/L, 其结果也在本方法定量限以内, 说明本地区的流域水未受到污染。

表 4 10 种农药的标准曲线、线性范围、相关系数及检出限、定量限
Table 4 Linear equations, linear ranges, correlation coefficients, limits of detection, limits of quantification of 10 pesticides

序号	名称	线性范围/(μg/L)	线性方程	相关系数(r)	LOD/(μg/L)	LOQ/(μg/L)
1	乙酰甲胺磷	5.0~100.0	Y=492.20X+94.14	0.999	3.0	5.0
2	氧化乐果	0.5~100.0	Y=39116.62X-3934.29	0.999	0.4	0.5
3	敌敌畏	5.0~100.0	Y=9 846.94X-1596	0.999	0.7	1.0
4	异丙威	5.0~100.0	Y=53092.12X-74657.32	0.999	1	4.0
5	莠去津	0.5~100.0	Y=86297.56X+14546.84	0.999	0.1	0.4
6	苯噻酰草胺	0.5~100.0	Y=172734.42X-36392.22	0.999	0.2	0.3
7	三唑磷	0.5~100.0	Y=162916.77X-32434.65	0.999	0.15	0.4
8	乙草胺	0.5~100.0	Y=11785.35X-2867.69	0.997	0.1	0.35
9	丁草胺	0.5~100.0	Y=12777.21X-3686.25	0.997	0.1	0.4
10	毒死蜱	0.5~100.0	Y=7765.63X-7384.17	0.999	0.1	0.2

表 5 10 种农药不同添加浓度的加标回收率和相对标准偏差(n=6)
Table 5 Recoveries and relative standard deviations of 10 pesticides(n=6)

序号	名称	5.0 μg/L		10.0 μg/L		50.0 μg/L	
		回收率/%	RSD/%	回收率/%	RSD/%	回收率/%	RSD/%
1	乙酰甲胺磷	109.9	4.1	104.5	5.9	99.7	2.5
2	氧化乐果	100.5	4.0	103.2	5.8	99.2	1.6
3	敌敌畏	88.9	8.1	91.8	7.1	98.5	1.3
4	异丙威	85.0	0.9	93.9	3.1	100.5	0.5
5	莠去津	85.5	2.6	84.9	2.6	91.4	2.0
6	苯噻酰草胺	78.0	3.3	83.7	2.1	76.9	4.1
7	三唑磷	95.9	2.1	94.3	2.0	101.1	2.8
8	乙草胺	91.3	0.8	97.0	2.4	104.1	2.0
9	丁草胺	107.2	3.4	103.4	1.3	101.4	0.5
10	毒死蜱	79.0	3.2	88.0	2.6	80.3	0.3

4 结论与讨论

本研究建立了直接进样-超高效液相色谱串联质谱法检测流域水中多种农药残留的方法,方法检出限大于等于《地表水环境质量标准》给定范围。10 种农药残留方法检出限在 0.1~3.0 $\mu\text{g/L}$,定量限在 0.2~5.0 $\mu\text{g/L}$,回收率在 78.0%~109.9%之间,总体而言,该方法操作简单,灵敏度高,具有较高的回收率和精密度,满足环境水中多农药残留的检测需求,适用于流域水中多种农药有机磷农药及除草剂的检测,为我省的水环境的快速检测提供技术依据。

参考文献

- [1] 丁浩东, 万红友, 秦攀, 等. 环境中有机磷农药污染状况、来源及风险评价[J]. 环境化学, 2019, (3): 1-16.
Ding HD, Wan HY, Qin P, *et al.* Environmental pollution status, sources and risk assessment of organophosphorus pesticides [J]. Environ Chem, 2019, (3): 1-16.
- [2] 马世龙, 崔明奎, 解辉, 等. 农药残留的危害及解决对策[J]. 农业技术与装备, 2018, (9): 343-346.
Ma SL, Cui MK, Xie H, *et al.* Harm of pesticide residues and countermeasures [J]. Agric Tech Equip, 2018, (9): 343-346.
- [3] 李涓琳. 农药残留及其对环境的污染[J]. 环境与发展, 2017, 29(9): 568.
Li ML. Pesticide residues and their environmental pollution [J]. Environ Dev, 2017, 29(9): 568.
- [4] 秦俊, 夏颖, 许珊丹. 湖北省 2007~2010 年农药中毒报告现状与特点分析[J]. 公共卫生与预防医学, 2012, 23(4): 65-67.
Qin J, Xia Y, Xu SD. Analysis on current situation and characteristics of pesticide poisoning reports in hubei province from 2007 to 2010 [J]. Pub Health Prev Med, 2012, 23(4): 65-67.
- [5] 薛晓莹. 气相色谱法在检测饮用水中有机磷农药残留的应用[J]. 同煤科技, 2019, (1): 432-436.
Xue XY. Application of gas chromatography in detecting organophosphorus pesticide residues in drinking water [J]. Tongmei Sci Technol, 2019, (1): 432-436.
- [6] Xiong J, Guan Z, Zhou G, *et al.* Determination of chlorpyrifos in environmental water samples by dispersive liquid-liquid microextraction with solidification of a floating organic drop followed by gas chromatography with flame photometry detection [J]. Anal Method, 2012, 4(10): 3246-3250.
- [7] Wu CX, Liu HM, Liu WH, *et al.* Determination of organophosphorus pesticides in environmental water samples by dispersive liquid-liquid microextraction with solidification of floating organic droplet followed by high-performance liquid chromatography [J]. Anal Bio Chem, 2010, 397(6): 2543-2549.
- [8] 夏静雪, 李洒, 李鹏飞. 气相色谱串联质谱法测定水中多种有机氯农药[J]. 广州化工, 2019, (19): 91-93.
Xia JS, Li S, Li PF. Determination of organochlorine residues in water by gas chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Guangzhou Chem Ind, 2019, (19): 91-93.
- [9] 赵慧琴, 刘斌. 水中莠去津等 11 种农药残留的超高效液相色谱/串联质谱分析法[J]. 职业与健康, 2015, 31(9): 1179-1181.
Zhao FQ, Liu B. Simultaneous determination of atrazine and other 10 pesticide residues in water by ultra high performance liquid chromatography/tandem mass spectrometry [J]. Occup Health, 2015, 31(9): 1179-1181.
- [10] 安静. 全自动固相萃取-气相色谱质谱法监测地表水中的 5 种有机磷类农药残留量[J]. 中国测试, 2019, 45(11): 61-65.
An J. Monitoring of 5 organophosphorus pesticide residues in surface water by fully automatic solid-phase extraction and gas chromatography-mass spectrometry [J]. China Meas Test, 2019, 45(11): 61-65.
- [11] 李敏青, 庄嘉, 徐娟, 等. 固相萃取-气相色谱法测定果汁中多种农药残留[J]. 食品安全质量检测学报, 2018, 9(24): 6508-6514.
Li MQ, Zhuang J, Xu J, *et al.* Determination of pesticide residues in fruit juice by solid phase extraction and gas chromatography [J]. J Food Saf Qual, 2018, 9(24): 6508-6514.
- [12] 于洪. 固相萃取-气相色谱质谱法测定水中百菌清和甲萘威[J]. 化学工程师, 2019, 33(2): 30-32.
Yu H. Determination of chlorothalonil and carvaryl in water by solid phase extraction and gas chromatography-mass spectrometry [J]. Chem Eng, 2019, 33(2): 30-32.
- [13] 王艳丽, 周阳. 固相微萃取-气相色谱-质谱法测定水中痕量有机磷和阿特拉津农药[J]. 中国环境监测, 2013, 29(1): 112-113.
Wang YL, Zhou Y. Determination of trace organophosphorus and atrazine pesticides in water by solid phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry [J]. Environ Monitor, 2013, 29(1): 112-113.
- [14] 朱月芳, 尹燕敏, 秦宏兵. 直接进样-超高效液相色谱串联质谱法同时测定水源水中 9 种农药[J]. 化学分析计量, 2016, 25(1): 19-21.
Zhu YF, Yin YM, Qin HB. Simultaneous determination of nine pesticides in water by direct injection and ultra high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. Chem Anal Metrol, 2016, 25(1): 19-21.
- [15] 江阳, 刘琳, 吴珂, 等. 直接进样-高效液相色谱-串联质谱法同时测定饮用水中 14 种痕量有机磷农药[J]. 现代预防医学, 2017, 44(11): 2065-2070.
Jiang Y, Liu L, Wu K, *et al.* Determination of fourteen trace organophosphorus pesticides in drinking water by liquid chromatography-tandem mass spectrometry with direct injection [J]. Mod Prev Med, 2017, 44(11): 2065-2070.
- [16] 李永刚, 张瑞, 陈子亮, 等. 液相色谱-串联质谱法直接测定水中 27 种农药残留[J]. 公共卫生与预防医学, 2016, 27(5): 99-101.
Li YG, Zhang R, Chen ZL, *et al.* Direct determination of 27 pesticide residues in water by liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Pub Health Prev Med, 2016, 27(5): 99-101.

(责任编辑: 于梦娇)

作者简介



赵 岚, 博士, 主任医师, 主要研究方向为食品安全检测。
E-mail: zhaolan75@163.com



金惠玉, 高级工程师, 主要研究方向为仪器分析和食品分析。
E-mail: 40123797@qq.com