

超高效液相色谱-质谱法直接进样测定水中草甘膦和丁基黄原酸

陈界江, 李凤彩, 高仪斌, 李冰, 徐珑
(苏州工业园区环境监测站, 江苏 苏州 215027)

摘要:通过优化色谱条件、稀释样品、加入氨水等措施,建立了超高效液相色谱-质谱法直接进样分析地表水及自来水中草甘膦和丁基黄原酸的方法。草甘膦和丁基黄原酸在各自线性范围内线性关系良好,相关系数(R^2)>0.999。方法检出限分别为5.20(前处理中对样品进行了20倍稀释)和0.08 $\mu\text{g/L}$,远低于国家标准限值要求。草甘膦和丁基黄原酸的加标回收率分别为73.8%~92.3%和85.0%~113.0%,样品间的标准偏差均<10%,准确度和精密度均满足质控要求。该方法简化了样品前处理过程,成功降低了基质效应对草甘膦和丁基黄原酸测定的干扰。

关键词:超高效液相色谱-质谱法;草甘膦;丁基黄原酸;基质效应;直接进样

中国分类号:X832;O657.7⁺²

文献标志码:B

文章编号:1674-6732(2018)06-0035-05

Determination of Glyphosate and Butylxanthic Acid in Water by Ultra-high Performance Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry with Direct Injection

CHEN Jie-jiang, LI Feng-cai, GAO Yi-bin, LI Bing, XU Long
(Suzhou Industrial Park Environmental Monitoring Station, Suzhou, Jiangsu 215027, China)

Abstract: A method for the determination of glyphosate and butylxanthic acid in surface water and tap water by direct injection-ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry was established by optimizing chromatographic conditions, diluting samples and adding ammonia. The linear relationship of glyphosate and butylxanthic acid was good in the respective linear range, and the correlation coefficient (R^2) > 0.999. The detection limits were 5.20 (sample was diluted 20 times in pretreatment) and 0.08 $\mu\text{g/L}$ respectively, which were far below the national standard limit. The recoveries of glyphosate and butylxanthic acid were 73.8%~92.3% and 85.0%~113.0% respectively. The standard deviations of parallel determinations were less than 10%. The accuracy and precision met the requirements of quality control. The method simplifies the sample pretreatment procedure and successfully reduces the interference of matrix effect on the determination of glyphosate and butylxanthic acid.

Key words: Ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry; Glyphosate; Butylxanthic acid; Matrix effect; Direct injection

饮用水安全是影响人体健康和经济发展的重要问题^[1]。草甘膦是全球农业生产中使用最为普遍的一种广谱、低毒灭生性除草剂。由于其广泛使用,必然在土壤中积累并对土壤化学过程及生态毒理产生一定的影响^[2]。研究表明,草甘膦对人体肝细胞有明显的损伤作用,高浓度的草甘膦对人体的免疫系统具有轻微的抑制作用,是一种潜在的内分泌干扰物^[3]。丁基黄原酸是一种浮选药剂,易残留于选矿废水中,极少量也可使水质散发臭味,若进入动物或人体内,易引起神经系统病症和肝脏器官受损^[4],且对鱼类胚胎有致畸作用^[5]。因此草甘膦

和丁基黄原酸是《地表水环境质量标准》(GB 3838—2002)^[6]及《生活饮用水卫生标准》(GB 5749—2006)^[7]中严格控制的有机物。

目前,测定草甘膦的主要方法有:气相色谱法、液相色谱法、离子色谱法和液相色谱-质谱法^[7-10]。前3种方法为了提高方法的灵敏度,须对样品进行液液萃取、浓缩及衍生化等预处理,无

收稿日期:2018-08-29;修订日期:2018-09-05

基金项目:苏州市环保科技基金资助项目(B201704)

作者简介:陈界江(1981—),女,工程师,硕士,从事环境监测工作。

法对批量样品进行高效快速的分析。液相色谱-质谱法则由于草甘膦极性较强,在分析过程中极易受到水体基质干扰。目前,测定丁基黄原酸的国标方法为铜试剂亚铜分光光度法(GB/T 5057—2006)^[11]和紫外分光光度法(HJ 756—2015)^[12],这 2 种方法均存在易受干扰、前处理复杂的缺点。此外,测定丁基黄原酸的方法还有:离子色谱法、原子吸收法、液相色谱法、吹扫捕集气相色谱-质谱法和超高效液相色谱-质谱法^[13-17]。为了缩短分析时间、提高分析效率,现建立了超高效液相色谱-质谱法直接进样测定水中草甘膦和丁基黄原酸的方法。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

仪器: Ultra 3000 型超高效液相色谱仪, TSQ Quantiva 型电喷雾串联四极杆质谱仪, Synchronis HILIC 型液相色谱柱(100 mm × 2.1 mm × 3 μm), Hypersil Golden 型液相色谱柱(50 mm × 2.1 mm × 1.9 μm), 以上仪器均购自美国 Thermo Fisher 公司; ACQUITY UPLC HSS T3 型液相色谱柱(100 mm × 2.1 mm × 3 μm, 美国 Waters 公司); NM32LA 型氮气发生器(英国 PEAK 公司)。

试剂: 草甘膦标准品(100 mg/L, 美国 AccuStandard 公司), 丁基黄原酸钾标准品(粉末状, 纯度 95%, 上海梯希爱公司), 甲醇和乙腈(色谱纯, 德国 Merck 公司), 氨水和醋酸铵(色谱纯, 上海阿拉丁有限公司), 纯净水(杭州娃哈哈集团有限公司)。

1.2 色谱条件

色谱柱: ACQUITY UPLC HSS T3 柱; 流量: 0.4 mL/min; 流动相 A: φ(氨水) = 0.01%, pH 值 = 10.0; 流动相 B: 甲醇; 进样体积 5 μL; 柱温 35℃。梯度洗脱: 0~0.5 min, 90% A, 0.5~2.5 min, (90%~5%) A, 2.5~4.0 min, 5% A, 4~4.01 min, (5%~90%) A, 4.01~6.0 min, 90% A。

1.3 质谱条件

草甘膦和丁基黄原酸的分析均选择 ESI 源作为离子源, 负离子扫描, 分析时采用多反应监测(MRM)模式。喷雾电压 2 800 V, 气化温度 300℃, 鞘气流量 10.5 L/min, 辅助气流量 30.3 L/min, 离子传输管温度 350℃, 碰撞气体(Ar) 2.0 × 10⁻⁶ kPa。经过质谱条件优化选择的母离子、子离子及碰撞能量参数见表 1。

表 1 多反应监测参数

| 化合物 | 保留时间/ min | 母离子 (<i>m/z</i>) | 子离子 (<i>m/z</i>) | 碰撞能 量/eV | 透镜电 压/V |
|------------|--------------|-------------------------|----------------------------|--------------|------------|
| 草甘膦 | 0.40 | 168.1[M-H] ⁻ | 150.0 ^① 79.1 | 10.2 38.2 | 32.2 |
| 丁基黄 原酸钾 | 1.56 | 149.3[M-H] ⁻ | 71.1 ^① 73.2 | 22.1 11.8 | 42.4 |

①为定量离子。

1.4 标准溶液及实际样品制备

标准溶液制备: 用氨化的(1+9)的(甲醇+水)溶液[V(甲醇):V(水) = 1:9, 含 1.0% 氨水]配制草甘膦质量浓度为 2.0, 5.0, 10.0, 20.0, 50.0 和 100.0 μg/L 的混合标准溶液, 配制丁基黄原酸钾质量浓度为 0.5, 1.0, 2.0, 5.0, 10.0, 20.0, 50.0 和 100.0 μg/L 的混合标准溶液。

实际样品制备: 实际样品为自来水、太湖及阳澄湖水源水样, 采样时直接加入氨水使水样中氨水体积分数达到 1.0%, 分析前须过滤。

2 结果与讨论

2.1 色谱条件优化

2.1.1 流动相的确定

考察了不同流动相 B(甲醇、乙腈)对草甘膦、丁基黄原酸峰形和响应强度的影响。结果表明, 对于草甘膦, 甲醇作流动相时的强度高于乙腈作流动相时的强度; 对于丁基黄原酸钾, 乙腈作流动相时的峰形较宽且多毛刺。因此, 选用甲醇作为流动相 B。同时, 考察了不同浓度氨水作流动相 A 时, 草甘膦和丁基黄原酸的色谱行为, 当氨水 pH 值 = 10.0 时, 草甘膦和丁基黄原酸钾的峰形最好, 峰高最高。

2.1.2 初始流动相体积比的确定

由于采用直接进样法, 因此初始流动相中有机相的比例不宜过高。现分析比较了初始流动相中甲醇体积分数为 3%, 5% 和 10% 时, 草甘膦和丁基黄原酸的响应情况, 见图 1(a)(b)。当初始流动相中甲醇体积分数为 10% 时, 峰高最高, 响应最好, 因此选用 10% 作为初始流动相中甲醇的体积分数。

2.1.3 色谱柱的选择

分别比较了在 ACQUITY UPLC HSS T3 柱、Hypersil Golden 柱和 Synchronis HILIC 柱 3 种液相色谱柱上草甘膦和丁基黄原酸的响应情况。由于草甘膦极性较强, 在 3 种色谱柱上保留时间均较短, 出峰靠前。丁基黄原酸则在 ACQUITY UPLC

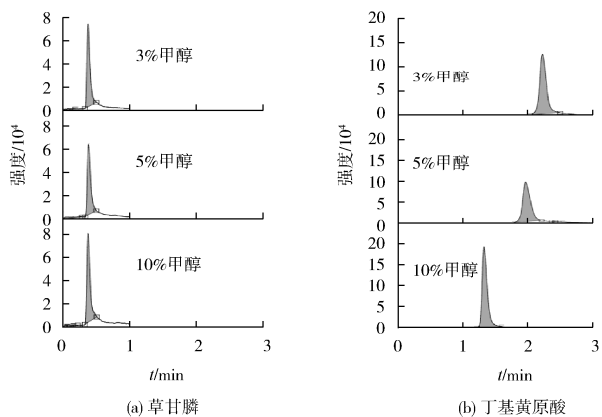


图 1 不同初始流动相体积比时草甘膦和丁基黄原酸的总离子流图

HSS T3 柱上峰形最好,柱效最高。同时考虑到 ACQUITY UPLC HSS T3 柱适合高水相比比例样品的分析,因此最终选择了该色谱柱作分析柱。

2.1.4 流速的选择

分析了流量为 0.2, 0.3 和 0.4 mL/min 时草甘膦和丁基黄原酸的响应情况,结果表明,流速降低会使草甘膦和丁基黄原酸的峰形变宽,响应强度降低,因此选择 0.4 mL/min 作为实际分析流量。

2.2 滤膜的选择

比较了孔径均为 0.22 μm 的聚醚砜、尼龙、疏水聚四氟乙烯和疏水玻璃纤维 4 种滤膜对加标水

样进行过滤的影响。4 种滤膜过滤后草甘膦和丁基黄原酸的加标回收率见表 2。由表 2 可见,尼龙滤膜对丁基黄原酸的影响较大,经尼龙滤膜过滤后样品中丁基黄原酸均未检出,可能是由于尼龙滤膜对丁基黄原酸的吸附作用较强。采用疏水聚四氟乙烯滤膜过滤后的 2 种目标化合物的加标回收率最高,因此选择该滤膜对样品进行过滤。

表 2 4 种滤膜对草甘膦和丁基黄原酸加标回收率的影响

| 化合物 | 加标回收率/% | | | |
|-------|--------------|-------------|-------------|-------------|
| | 聚醚砜 | 尼龙 | 疏水聚四氟乙烯 | 疏水玻璃纤维 |
| 草甘膦 | 92.2 ~ 101.3 | 82.4 ~ 94.7 | 100 ~ 104 | 67.3 ~ 72.0 |
| 丁基黄原酸 | 64.7 ~ 70.4 | 0 | 88.8 ~ 95.8 | 51.1 ~ 69.1 |

2.3 线性范围、检出限和测定下限

连续分析 7 个接近于检出限浓度的实验室空白加标样品,计算其标准偏差 S ,并以公式 $MDL = S \times t_{(n-1, 0.99)}$ 计算方法的检出限,以 4 倍检出限作为测定下限。从表 3 可以看出,草甘膦和丁基黄原酸在其各自的线性范围内线性关系良好,相关系数均 > 0.999 ;检出限均远低于《地表水环境质量标准》(GB 3838—2002)及《生活饮用水卫生标准》(GB 5749—2006)中草甘膦(0.7 mg/L)和丁基黄原酸(0.005 mg/L)的标准限值要求。

表 3 草甘膦及丁基黄原酸的标准曲线、线性范围、相关系数、检出限和测定下限

| 化合物 | 标准曲线 | 线性范围/ (μg · L ⁻¹) | 相关系数 (R ²) | 检出限/ (μg · L ⁻¹) | 测定下限/ (μg · L ⁻¹) |
|-------|--------------------------|----------------------------------|---------------------------|---------------------------------|----------------------------------|
| 草甘膦 | $y = 1\ 120\ x - 681$ | 2.0 ~ 100.0 | 0.999 8 | 0.26 | 1.04 |
| 丁基黄原酸 | $y = 2\ 983\ x - 1\ 118$ | 0.5 ~ 100.0 | 0.999 9 | 0.08 | 0.32 |

2.4 草甘膦基质干扰的消除

实验中发现,对地表水(阳澄湖、太湖)和自来水的加标样品直接进样分析时,观察不到草甘膦的色谱峰。这可能是由于草甘膦极性较强,保留时间很短,测试时极易受到基质干扰所致。现采用稀释的方法降低水样中的基质干扰,水样的稀释倍数和草甘膦的回收率关系见图 2。由图 2 可见,样品不经稀释时草甘膦几乎无响应,随着稀释倍数增加到 20 倍,各水样的加标回收率均稳定在 80% ~ 120% 之间,因此水样稀释 20 倍可基本消除基质对草甘膦的离子抑制作用。由于草甘膦的测定对样品进行了稀释,因此草甘膦的检出限应为方法检出限与

稀释倍数的乘积,即 5.20 μg/L。

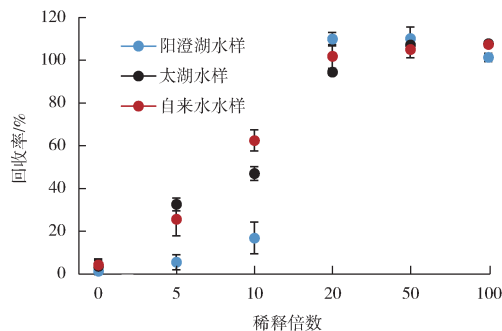


图 2 草甘膦水样稀释倍数对回收率的影响

2.5 丁基黄原酸基质干扰的消除

在分析加标的自来水样与太湖水样时发现,实际水样的基质干扰会影响丁基黄原酸的加标回收率和保留时间。水样中氨水加入量对基质干扰消除的影响见图 3(a)(b)(c), RT 为保留时间, AA 为峰面积。从图 3(a)中自来水样和标样的峰面积比值 < 5% 可以看出,自来水样中丁基黄原酸的加

标回收率很低,这可能是由于自来水样中的余氯导致了丁基黄原酸的分解。同时可见,太湖水样与自来水样中丁基黄原酸的色谱峰保留时间(1.53 和 1.56 min)与标样色谱峰保留时间(1.42 min)相比均发生较大的漂移,这可能是由于太湖水样与自来水样中的基质相对复杂,导致丁基黄原酸的出峰时间拖后。

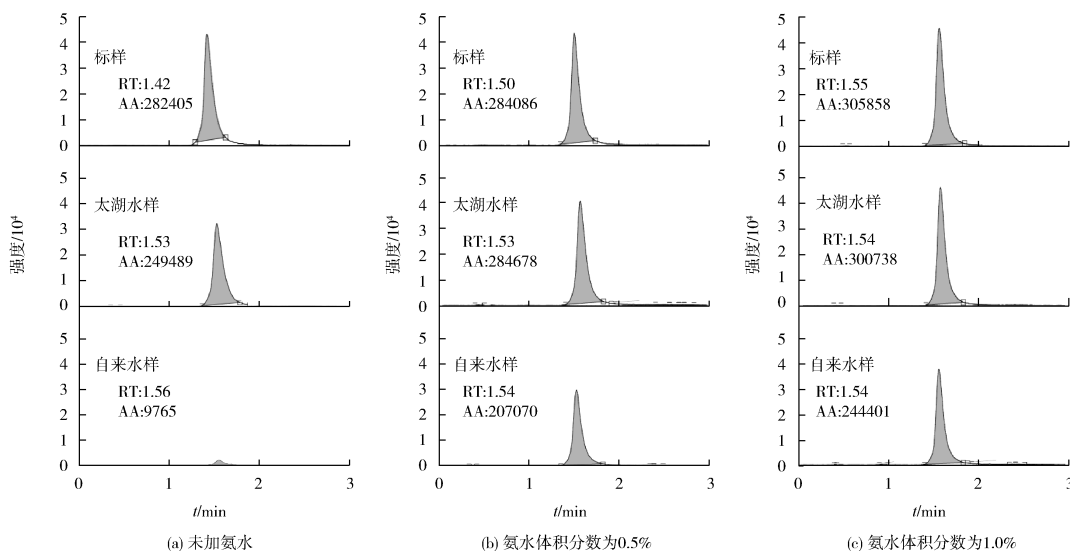


图 3 标准样品和实际样品中氨水加入量对丁基黄原酸基质干扰消除的影响

为了消除干扰,分别研究了向加标样品加入不同量的氨水溶液时(水中氨水体积分数分别为 0.5% 和 1.0%),各加标水样中丁基黄原酸的保留时间和峰面积的情况。为了保证标样和加标水样的一致性,也向标样中加入相同体积的氨水。如图 3(b)(c)所示,自来水样中加入一定量的氨水后,丁基黄原酸峰面积与标样峰面积的比值逐步增加,当氨水体积分数达到 1.0% 时,此比值最大,说明此时自来水样的加标回收率最高。当氨水体积分数为 0.5% 时,标样、太湖水样与自来水样中丁基黄原酸的保留时间分别为 1.50, 1.53 和 1.54 min,

当氨水体积分数达到 1.0% 时,标样、太湖水样与自来水样中丁基黄原酸的保留时间分别为 1.55, 1.54 和 1.54 min,说明氨水的加入使太湖水样与自来水样中丁基黄原酸出峰时间拖后的问题得到解决。因此,适量氨水的加入不但可以防止丁基黄原酸的分解,消除基质的干扰,还可以作为样品采集时的保护剂,方便后续实验分析工作的进行。

2.6 精密度与准确度

采集的地表水和自来水样品中未检出草甘膦和丁基黄原酸。草甘膦和丁基黄原酸实际水样中的加标回收率和标准偏差见表 4。

表 4 草甘膦和丁基黄原酸实际水样中的加标回收率和标准偏差 ($n = 6$)

| 化合物 | 加标量/ ($\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$) | 自来水 | | | 太湖水源水 | | | 阳澄湖水源地水 | | |
|-----------|---|---|-----------|------------|---|-----------|------------|---|-----------|------------|
| | | 实测值/ ($\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$) | 回收率/ % | 标准偏 差/% | 实测值/ ($\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$) | 回收率/ % | 标准偏 差/% | 实测值/ ($\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$) | 回收率/ % | 标准偏 差/% |
| 草甘膦 | 2.00 | 1.54 | 77.1 | 3.0 | 1.66 | 83.2 | 5.7 | 1.48 | 73.8 | 3.9 |
| | 10.0 | 8.29 | 82.9 | 3.4 | 8.38 | 83.8 | 3.1 | 8.15 | 81.5 | 5.1 |
| | 50.0 | 46.1 | 92.3 | 2.8 | 42.1 | 84.2 | 3.7 | 43.1 | 87.3 | 4.1 |
| 丁基黄 原酸 | 1.00 | 0.89 | 89.2 | 1.3 | 0.87 | 87.2 | 4.4 | 0.85 | 85.0 | 3.0 |
| | 10.0 | 10.7 | 107 | 2.1 | 11.3 | 113 | 3.3 | 9.48 | 94.8 | 3.4 |
| | 50.0 | 50.2 | 100 | 1.9 | 48.7 | 97.4 | 2.5 | 46.1 | 92.1 | 3.1 |

由表4可见,在地表水和自来水中分别加入低、中、高3种不同质量浓度的标样,使稀释后的草甘膦样品中标准溶液的质量浓度分别为2.0、10.0和50.0 $\mu\text{g/L}$,而无须稀释的丁基黄原酸钾样品中标准溶液的质量浓度分别为1.0、10.0和50.0 $\mu\text{g/L}$,样品以0.22 μm 的疏水聚四氟乙烯滤膜过滤后分析。草甘膦的加标回收率为73.8%~92.3%,丁基黄原酸的加标回收率为85.0%~113.0%;样品间的标准偏差均 $<10\%$,能够很好地满足质控要求。

3 结论

通过优化色谱条件,稀释样品、加入氨水等简单有效的措施,建立了直接进样分析水样中草甘膦和丁基黄原酸的方法,该方法降低和消除了基质干扰对草甘膦和丁基黄原酸测定的影响。该方法的检出限远低于标准限值的要求,精密度和准确度也达到了质量控制的要求。同时简化了样品分析的前处理过程,提高了分析效率,在地表水尤其是水源地水质监测中具有良好的适用性。

[参考文献]

- [1] World Health Organization. Guidelines for drinking - water quality (4th edition) [S]. 2011.
- [2] 周垂帆,李莹,张晓勇,等. 草甘膦毒性研究进展[J]. 生态环境学报, 2013, 22(10): 1737 - 1743.
- [3] 窦健瑞,钱晓勤,毛一扬. 草甘膦对人体的毒性研究进展[J]. 江苏预防医学, 2013, 24(6): 43 - 45.

- [4] 曾艳,唐琳,张明青. 选矿废水中残留黄药处理技术及机理研究进展[J]. 工业水处理, 2010, 30(7): 8 - 10.
- [5] 张甫英. 浮选剂丁基黄原酸钠对草鱼早期发育阶段的毒性效应[J]. 水生生物学报, 1995, 19(2): 104 - 109.
- [6] 国家环境保护总局,国家质量监督检验检疫总局. 地表水环境质量标准: GB 3838—2002 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2002.
- [7] 中华人民共和国卫生部. 生活饮用水卫生标准: GB 5749—2006 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2006.
- [8] 郑和辉,李洁,魏建荣,等. 液相色谱串联质谱法直接进样测定水中呋喃丹、草甘膦、灭草松和2,4-滴[J]. 卫生研究, 2009, 38(3): 302 - 303.
- [9] 丘露,邓钧. 离子色谱法同时检测饮用水中草甘膦、2,4-D和灭草松[J]. 广东农业科学, 2013, 40(2): 93 - 94.
- [10] 周艳明,李娜,牛森,等. 液相色谱法检测水中草甘膦残留量的研究[J]. 中国测试, 2007, 33(3): 114 - 116.
- [11] 中华人民共和国卫生部,中国国家标准化管理委员会. 生活饮用水卫生标准检验方法: GB/T 5750—2006 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2006.
- [12] 环境保护部. 水质 丁基黄原酸的测定 紫外分光光度法: HJ 756—2015 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2015.
- [13] 朱红霞,刀媚,彭涛. 离子色谱法测定丁基黄原酸[J]. 中国测试, 2015, 41(4): 36 - 38.
- [14] 朱红霞,梁宵,于海斌. 有机溶剂萃取-火焰原子吸收法测定丁基黄原酸[J]. 中国测试, 2015, 41(5): 42 - 45.
- [15] 彭涛,王超,吕怡兵,等. 超高效液相色谱法快速检测地表水中丁基黄原酸[J]. 中国环境监测, 2013, 29(2): 65 - 68.
- [16] 王美飞,胡恩宇,杨丽莉. 吹扫捕集-气相色谱-质谱法测定水中痕量丁基黄原酸[J]. 中国环境监测, 2011, 27(S1): 15 - 17.
- [17] 刘景泰,李振国. 超高效液相色谱-质谱法测定地表水中丁基黄原酸[J]. 中国环境监测, 2012, 28(5): 76 - 78.

(上接第31页)

[参考文献]

- [1] 环境保护部. 环境监测方法标准制订技术导则: HJ 168—2010 [S]. 北京: 中国环境科学出版社, 2010.
- [2] 环境保护部. 土壤和沉积物 丙烯醛、丙烯腈、乙腈的测定 顶空-气相色谱法: HJ 679—2013 [S]. 北京: 中国环境科学出版社, 2013.
- [3] 环境保护部. 土壤和沉积物 半挥发性有机物的测定 气相色谱-质谱法: HJ 834—2017 [S]. 北京: 中国环境科学出版社, 2017.
- [4] 环境保护部. 土壤 毒鼠强的测定 气相色谱法: HJ 614—2011 [S]. 北京: 中国环境科学出版社, 2011.

- [5] 环境保护部. 土壤和沉积物 多氯联苯混合物的测定 气相色谱法: HJ 890—2017 [S]. 北京: 中国环境科学出版社, 2017.
- [6] 环境保护部. 土壤 总磷的测定 碱熔-钼锑抗分光光度法: HJ 632—2011 [S]. 北京: 中国环境科学出版社, 2010.
- [7] 环境保护部. 土壤和沉积物 汞、砷、硒、铋、锑的测定 微波消解原子荧光法: HJ 680—2013 [S]. 北京: 中国环境科学出版社, 2010.
- [8] 国家环境保护局, 中国环境监测总站. 中国土壤元素背景值 [M]. 北京: 中国环境科学出版社, 1990.
- [9] 环境保护部. 土壤和沉积物 多氯联苯的测定 气相色谱-质谱法: HJ 743—2015 [S]. 北京: 中国环境科学出版社, 2015.