

桃果实叶片和土壤草甘膦和氨甲基膦酸残留的 HPLC-MS/MS 检测方法

乔成奎, 王超, 黄玉南, 谢汉忠*, 罗静, 庞涛, 方金豹

(中国农业科学院郑州果树研究所, 农业部果品质量安全风险评估实验室(郑州), 农业部果品及苗木质量监督检验测试中心(郑州), 郑州 450009)

摘要: 建立了桃果实、叶片和土壤中草甘膦(PMG)及其代谢物氨甲基膦酸(AMPA)的高效液相色谱—串联质谱(HPLC-MS/MS)的检测方法。样品经碳酸氢钠水溶液和二氯甲烷共同提取,以9-苄基甲基三氯甲烷为衍生剂室温下衍生3 h,多反应监测(MRM)模式检测。草甘膦及其代谢物氨甲基膦酸在1~2 000 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的质量浓度范围内线性关系良好,相关系数均大于0.999;在0.01~1.0 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 添加水平下平均回收率为76.7%~93.0%,相对标准偏差(RSD)为2.2%~8.7%;方法定量限(LOQ)均为0.01 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$;适用于桃果实和叶片及土壤中草甘膦及其代谢物氨甲基膦酸残留的快速检测。

关键词: 桃; 果实; 叶片; 土壤; 草甘膦; 氨甲基膦酸; 高效液相色谱—串联质谱

中图分类号: S 662.1

文献标志码: A

文章编号: 0513-353X (2017) 03-0566-09

Determination of Glyphosate and Aminomethylphosphonic Acid Residues in Peach Fruit, Leaf and Soil by High Performance Liquid Chromatography - Tandem Mass Spectrometry

QIAO Chengkui, WANG Chao, HUANG Yunan, XIE Hanzhong*, LUO Jing, PANG Tao, and FANG Jinbao

(Zhengzhou Fruit Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences; Laboratory of Quality and Safety Risk Assessment for Fruit (Zhengzhou), Ministry of Agriculture; Fruit and Nursery Stock Quality Supervision and Testing Center (Zhengzhou), the Ministry of Agriculture, Zhengzhou 450009, China)

Abstract: An analytical method for the determination of glyphosate (PMG) and aminomethylphosphonic acid (AMPA) in peach fruit, leaf and soil was established using high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (HPLC-MS/MS). The samples were extracted with NaHCO_3 water solution and dichloromethane, derived with 9-fluorenylmethyl chloroformate (FMOC-Cl) at room temperature for 3 h, and analyzed in multiple reaction monitoring (MRM) mode. The results indicated good linearity with correlation coefficients greater than 0.999 in the concentration range of 1 - 2 000 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$. The average recoveries of PMG and AMPA in each matrixes were found between 76.7% and 93.0% at 0.01 - 1.0 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, with relative standard deviations (RSD) of 2.2% - 8.7%. The limits of

收稿日期: 2016-09-01; **修回日期:** 2017-02-24

基金项目: 中国农业科学院科技创新工程专项经费项目(CAAS-ASTIP-2016-ZFR1); 2017年国家农产品质量安全风险评估项目(GJFP2017003)

* 通信作者 Author for correspondence (E-mail: xiehanzhong@caas.cn)

quantification (LOQ) were $0.01 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$. The method was suitable for rapid determination of PMG and AMPA residues in fruit and leaf of peach and soil.

Keywords: peach; fruit; leaf; soil; glyphosate; aminomethylphosphonic acid; HPLC-MS/MS

草甘膦 (Glyphosate, PMG) 是一种非选择灭生性除草剂, 对多年生杂草非常有效, 广泛用于橡胶、桑、茶、果园及甘蔗地。随着草甘膦的大量使用, 其残留问题日渐受到关注, 是潜在的生态环境危险源。有研究发现, 其对动物和人类生殖系统存在巨大风险 (杨治峰 等, 2013; 周垂帆 等, 2013)。各国对果品中草甘膦的最大残留限量 (MRL) 都制定了严格的标准, 目前中国规定在核果类果实中草甘膦的 MRL 值为 $0.1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ (GB 2763-2014), 欧盟规定其在桃上为 $0.1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 而新西兰的标准更为严格, 水果类均为 $0.01 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。

草甘膦的主要代谢产物为氨基磷酸 (Aminomethylphosphonic acid, AMPA)。草甘膦和氨基磷酸都为小分子化合物, 具有强极性, 易溶于水, 难溶于一般有机溶剂等特性, 而且难挥发、缺少发色团和荧光团, 提取和检测都存在困难 (Coutinho et al., 2007)。其现有的检测方法有离子色谱法 (Marques et al., 2007; 邱慧敏 等, 2013)、毛细管电泳法 (Corbera et al., 2005)、气相色谱法 (胡继业 等, 2007)、液相色谱法 (汪立高等, 2011)、气相色谱-质谱法 (Yasushi et al., 2003), 但这些方法存在灵敏度不够高, 稳定性差, 或只适用于单纯基质等问题。液相色谱-串联质谱法 (LC-MS/MS) 具有更高的灵敏度和选择性, 是目前检测 PMG 和 AMPA 残留量的最主要方法。此方法多用于液体基质, 如水体 (Hao et al., 2011)、人乳、尿和牛乳 (Jensen et al., 2016), 茶叶 (刘正才 等, 2015; 诸力 等, 2015), 植物源食品 (周爽 等, 2013; Chamkasem & Harmon, 2016; Nortes-Mendez et al., 2016) 和动物源食品肝脏 (Szternfeld et al., 2016) 等的分析, 用于土壤 (刘拉平等, 2015) 中草甘膦残留的研究鲜有报道。亲水作用色谱-串联质谱法 (HILIC-MS/MS) 是一种检测草甘膦残留的新兴方法, 无需衍生化, 采用该方法测定人体血清 (Yoshioka et al., 2009)、水 (Hao et al., 2011) 和农产品 (Martins-Junior et al., 2009; 江燕 等, 2012) 中的草甘膦残留已有报道。这种方法在血清和水等简单基质中有较好表现, 但在复杂的基质中, 灵敏度低, 稳定性和重复性差, 无法满足痕量检测的要求。而采用柱前衍生 HPLC-MS/MS 方法检测草甘膦残留, 稳定性和灵敏度都能满足复杂基质中对草甘膦和氨基磷酸残留的测定, 但此方法增加了衍生化的步骤, 样品衍生前需净化处理, 相关报道文献中多采用阴离子交换柱进行净化, 增加了前处理步骤。而本次建立的柱前衍生 HPLC-MS/MS 方法中提取与净化相结合, 一步完成并且效果良好。

本研究参考目前相关基质中草甘膦残留的检测方法, 建立了桃果实和叶片及土壤中草甘膦及其代谢物氨基磷酸的柱前衍生 HPLC-MS/MS 检测方法, 为研究草甘膦在土壤中的消解及土壤-桃树体系的迁移代谢规律提供了技术支撑。

1 材料与方 法

1.1 样品采集与制备

桃果实和叶片样品采自河南省中牟县桃园, 从施药当天开始采样。

供试土壤样品分别为采自河南郑州的黄土、黑龙江哈尔滨的黑土和云南昆明的红土, 去除杂质, 晾干后过筛, 筛孔径 $840 \mu\text{m}$ 。3 种土壤理化性质见表 1。

表 1 土壤样品理化性质

Table 1 Physical and chemical properties of the soil samples

土壤 Soil	采集地 Sampling site	pH	阳离子交换量/($\text{cmol} \cdot \text{kg}^{-1}$) CEC
黄土 Loess soil	河南郑州 Zhengzhou, Henan	5.21	30.42
黑土 Black soil	黑龙江哈尔滨 Harbin, Heilongjiang	5.81	14.29
红土 Red soil	云南昆明 Kunming, Yunnan	7.38	7.13

仪器包括: Agilent 1290-6460 高效液相色谱—三重四级杆串联质谱仪 (美国 Agilent 公司), 调速多用振荡器 (常州国华电器有限公司), 台式高速离心机 (上海力申科学仪器有限公司), 优普超纯水制造系统 (成都超纯科技有限公司)。

试剂包括: 草甘膦 (98.0%) 和氨甲基膦酸 (99.0%) 标准品 (德国 Dr. Ehrenstorfer 公司)。乙腈、二氯甲烷 (HPLC 级, 美国 Thermo Fisher 公司); 9- 芴基甲基三氯甲烷 (9-fluorenylmethyl chloroformate, FMOC-Cl) (德国 CNW 公司); 乙酸铵、碳酸氢钠、氢氧化钠 (HPLC 级, 德国 CNW 公司); 试验用水为一级水 (经优普超纯水机制备)。

提取与净化: 分别称取 10.0 g 试样 (黄土、黑土、红土、桃果实、叶片) 于 250 mL 具塞锥形瓶中, 分别加入 20 mL (土)、100 mL (桃果实、叶片) 碱性提取液, 再加入 50 mL 二氯甲烷 (净化作用), 振荡提取 1 h, 静置 30 min, 取 4 mL 上层液, 以 $10\,000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 5 min; 取 1 mL 上清液, 待用。

衍生处理: 分别取上清液和基质混合标准溶液 1 mL, 加入 $300 \mu\text{L } 30.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 硼酸钠缓冲液, 混合后再分别加入 $300 \mu\text{L } 1.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ (土)、 $10.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ (桃果实、叶片) FMOC-Cl 丙酮溶液, 涡旋 1 min, 室温下衍生 3 h, 再以 $10\,000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 5 min, 取上清液过 $0.45 \mu\text{m}$ 水系滤膜, 待 HPLC-MS/MS 检测。

1.2 溶液的配制

分别称取 10.000 mg 草甘膦和氨甲基膦酸标准品, 用水溶解并定容至 10 mL, 配制 $1\,000.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的标准储备液, 于 $4 \text{ }^\circ\text{C}$ 下保存, 使用时用水逐级稀释成所需浓度的标准工作液。碱性提取溶液: 称取适量的碳酸氢钠, 用水溶解并定容至 1 L, 配制 $20.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的碳酸氢钠水溶液, 再以 $5.0 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 氢氧化钠调节至 pH 13。9- 芴基甲基三氯甲烷丙酮溶液: 分别称取 0.10 g 和 1.0 g FMOC-Cl, 用丙酮溶解并定容至 100 mL, 配制成 1.0 和 $10.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ FMOC-Cl 丙酮溶液。

1.3 色谱与质谱条件

1.3.1 色谱条件

液相色谱柱: ZORBAX Eclipse Plus C_{18} ($3.0 \text{ mm} \times 150 \text{ mm} \times 1.8 \mu\text{m}$); 柱温: $30 \text{ }^\circ\text{C}$; 流动相: A 为含 0.04% 甲酸的 $10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 乙酸铵水溶液, B 为乙腈; 梯度洗脱程序为: $0 \sim 2 \text{ min}$, 10% B; $2 \sim 3 \text{ min}$, 10% ~ 40% B; $3 \sim 8 \text{ min}$, 40% ~ 60% B; 8.1 min, 60% ~ 10% B; 10 min, 10% B。流速: $0.3 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$; 进样量: $5 \mu\text{L}$ 。

1.3.2 质谱条件

电喷雾离子源 (ESI); 扫描模式: 正离子模式; 检测方式: 多反应监测 (MRM); 干燥气温度 $350 \text{ }^\circ\text{C}$; 干燥气流速 $8 \text{ L} \cdot \text{min}^{-1}$; 雾化气压力 241 kPa; 鞘流气温度 $350 \text{ }^\circ\text{C}$, 流速 $12 \text{ L} \cdot \text{min}^{-1}$; 毛细管电压: 4 000 V。时间分组程序: $0 \sim 5 \text{ min}$, 进废液 (To Waste); $5 \sim 7 \text{ min}$, 进质谱 (To Mass); $7 \sim 10 \text{ min}$, 进废液 (To Waste)。

2 结果与分析

2.1 质谱条件的选择与优化

对草甘膦和氨基甲酸磷标准溶液的衍生液进行了 ESI 离子源正负模式下的全扫描, 经比较选择 ESI (+) 模式下各分子 $[M+H]^+$ 为母离子, 并对碎裂电压、碰撞能量及离子源参数进行优化, 选择峰度高、干扰少的两对离子为子离子, 具体优化结果见表 2。由于衍生需加入硼酸钠缓冲溶液, 为了减少钠盐与杂质对仪器的污染, 在使用质谱操作软件 Agilent MassHunter Workstation 建立检测方法时, 编辑流动相在方法运行时的前 5 min 和最后 3 min 进废液。

表 2 草甘膦和氨基甲酸磷衍生物质谱参数

Table 2 MS parameters for derivatizations of PMG and AMPA

分析物 Analyte	母离子 Precursor ion (m/z)	子离子 Product ion (m/z)	碎裂电压/V Fragmentor	碰撞电压/eV Collision energy	保留时间/min Retention time
草甘膦衍生物 PMG-FMOC	392	178.8	106	28	5.590
		88.0*	106	16	
氨基甲酸磷衍生物 AMPA-FMOC	334	179.1*	105	10	5.956
		155.7	105	4	

* 定量离子 Quantitative ion.

2.2 色谱条件的优化

为获得更好的仪器响应和色谱分离效果, 对流动相体系进行了优化。对比了 $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 草甘膦和氨基甲酸磷混合标准溶液衍生液在 3 种流动相组合 (图 1, I、II、III) 下的色谱行为。

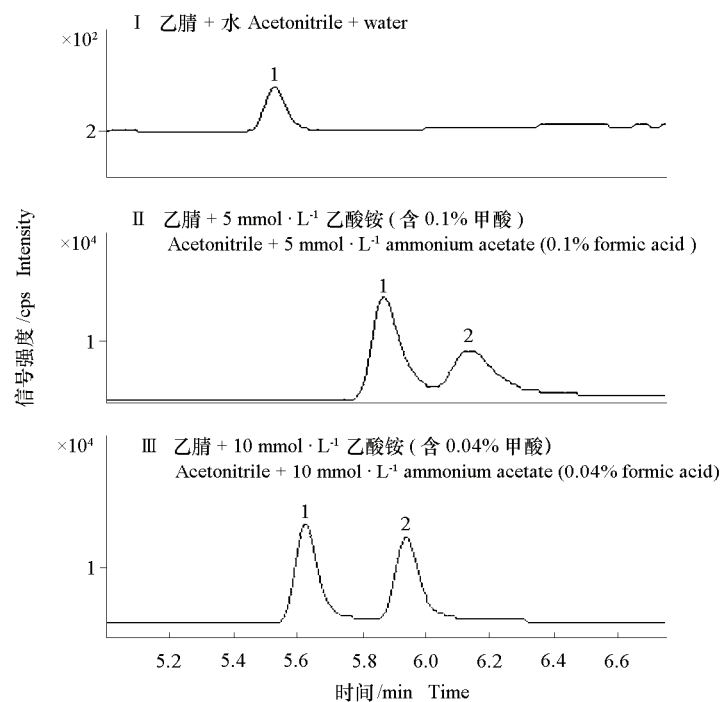


图 1 不同流动相下草甘膦衍生物 (1) 和氨基甲酸磷衍生物 (2) 色谱图

Fig. 1 Chromatograms of PMG-FMOC (1) and AMPA-FMOC (2) with different mobile phases

结果表明：乙腈 + 水的流动相组合（I）下色谱保留性较差，响应低，不采用；而乙腈 + 乙酸铵的流动相组合（II和III）具有较好的色谱分离效果，且随着乙酸铵浓度的增加，氨甲基磷酸的响应明显提高，流动相中的甲酸可提供 H⁺，能维持目标离子质子化状态，增强目标分析物在流动相中的离子化程度，有助于提高检测效率。

综合考虑最终选择III，乙腈 + 10 mmol · L⁻¹ 乙酸铵（含 0.04%甲酸）作为流动相。

2.3 前处理条件的优化

2.3.1 提取条件的优化

以水、乙腈和 20.0 g · L⁻¹ 的碳酸氢钠水溶液（pH 13）为提取剂，提取后不做净化直接衍生，在 1.3 节色谱与质谱条件下进行分析，结果表明以 20.0 g · L⁻¹ 的碳酸氢钠水溶液（pH 13）为提取剂时回收率最高，相关性好。

在此基础上又对不同体积（20、50 和 100 mL）的提取剂的回收率及重现性进行了考察。结果（表 3）表明：土壤（黄土、黑土和红土）以 20 mL 20.0 g · L⁻¹ 的碳酸氢钠水溶液（pH 13）为提取剂时提取效果最优，草甘膦和氨甲基磷酸平均回收率为 87.0% ~ 89.3%，相对标准偏差为 2.3% ~ 8.7%；果实和叶片以 100 mL 20.0 g · L⁻¹ 的碳酸氢钠水溶液（pH 13）为提取剂时提取效果最好，草甘膦和氨甲基磷酸平均回收率为 85.7% ~ 93.0%，相对标准偏差为 0.7% ~ 7.1%。

表 3 不同体积提取剂的提取效果比较
Table 3 Extraction effects by several volume extraction solvents

基质 Matrixes	添加浓度/ Spiked (mg · kg ⁻¹)	提取液体积/ Extractant volume (mL)	回收率/% Recovery	
			草甘膦 PMG	氨甲基磷酸 AMPA
黄土 Loess	1.0	20	87.3 ± 8.7	88.7 ± 8.2
		50	72.3 ± 10.0	67.0 ± 9.1
		100	75.7 ± 11.9	74.3 ± 12.2
黑土 Black soil	1.0	20	88.0 ± 2.3	87.0 ± 5.0
		50	66.7 ± 3.8	65.0 ± 6.7
		100	71.3 ± 5.7	70.3 ± 8.1
红土 Red soil	1.0	20	88.3 ± 7.4	89.3 ± 6.8
		50	64.3 ± 7.0	62.7 ± 7.4
		100	69.3 ± 10.6	67.0 ± 9.3
桃果实 Peach fruit	1.0	20	57.0 ± 12.7	53.7 ± 12.0
		50	79.3 ± 6.9	83.7 ± 5.9
		100	85.7 ± 0.7	90.7 ± 2.1
桃叶片 Peach leaf	1.0	20	57.7 ± 1.0	58.3 ± 2.6
		50	87.0 ± 6.0	77.3 ± 4.0
		100	93.0 ± 2.2	86.7 ± 3.5

n = 3.

2.3.2 衍生条件的优化

以 1 mL 质量浓度分别为 0.3 mg · L⁻¹ 的草甘膦和氨甲基磷酸各基质混合标准溶液进行试验，加入 30.0 g · L⁻¹ 硼酸钠水溶液 300 μL，质量浓度分别为 1.0 g · L⁻¹ 和 10.0 g · L⁻¹ FMO-CI 丙酮溶液各 300 μL，室温下衍生，时间分别为 1、2、3 和 5 h，试验结果见图 2。

由此可得出以下结论：（1）在土壤基质中，当衍生时间大于 3 h 后衍生化反应趋于稳定，PMG 在两种浓度的衍生试剂下差异不大；而 AMPA 在低浓度为 1.0 g · L⁻¹ 的衍生试剂下仪器响应值更好。

（2）在桃果实和叶片基质中，AMPA 在两种浓度的衍生试剂下反应 3 h 后均有较好的仪器响应值，而 PMG 在高浓度为 10.0 g · L⁻¹ 的衍生试剂下仪器响应值明显高于低浓度，且在衍生 3 h 后趋于平稳。

综上所述, 最终选择在 1 mL 待衍生液中加入 300 μL 30.0 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 硼酸钠溶液和 300 μL 1.0 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ (土壤) 或 10.0 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ (果实和叶片) FMOC-Cl 丙酮溶液室温下衍生 3 h 后, 草甘膦和氨甲基膦酸达到最好衍生效果。

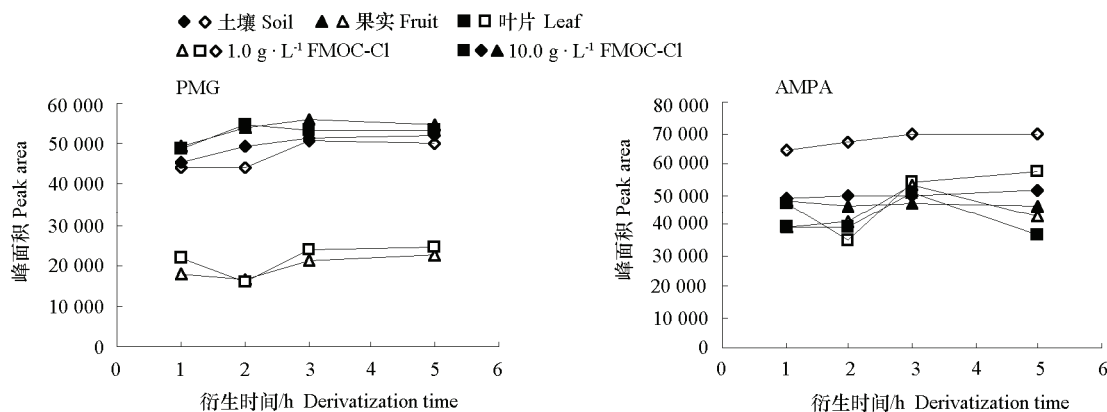


图 2 衍生试剂 (FMOC-Cl) 用量及衍生时间对检测灵敏度的影响
Fig. 2 Effects of the amount of derivative reagent and time on the test sensibility

2.4 线性范围、检出限、定量限和基质效应评价

分别配制草甘膦和氨甲基膦酸各基质混合标准溶液和以水为溶剂的混合标准溶液, 在已优化的色谱和质谱条件下, 以定量离子的峰面积对相应的质量浓度进行线性回归, 并计算线性方程及其相关系数。结果 (表 4) 表明, 草甘膦和氨甲基膦酸在 1 ~ 2 000 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的质量浓度范围内线性关系良好, 相关系数均大于 0.999。水溶剂混合标准溶液线性方程分别为 $y = 217\ 166x + 1\ 792$ (PMG)、 $y = 193\ 753x + 2\ 928$ (AMPA), 相关系数分别为 0.9995 和 0.9992。以 3 倍信噪比 ($S/N = 3$) 计算方法检出限 (LOD) 在 0.55 ~ 0.91 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 之间; 0.01 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的最低添加浓度, 其回收率和 RSD 均满足农药残留试验要求, 定为定量限 (LOQ)。

表 4 不同基质中草甘膦和氨甲基膦酸的线性方程、相关系数和斜率比
Table 4 Linear equations, correlation coefficients and slope ratios of PMG and AMPA in different matrixes

基质 Matrixes	化合物 Compound	线性方程 Linear equation	相关系数 <i>r</i>	斜率比 Slope ratio
水 Water	PMG	$y = 217\ 166x + 1\ 792$	0.9995	
	AMPA	$y = 193\ 753x + 2\ 928$	0.9992	
黄土 Loess	PMG	$y = 184\ 401x - 84$	0.9999	0.85
	AMPA	$y = 191\ 420x + 64$	0.9999	0.99
黑土 Black soil	PMG	$y = 177\ 862x + 719$	0.9994	0.82
	AMPA	$y = 180\ 653x + 656$	0.9992	0.93
红土 Red soil	PMG	$y = 172\ 659x + 402$	0.9996	0.80
	AMPA	$y = 175\ 632x + 562$	0.9997	0.91
桃果实 Peach fruit	PMG	$y = 181\ 837x - 344$	0.9999	0.84
	AMPA	$y = 157\ 923x + 633$	0.9997	0.82
桃叶片 Peach leaf	PMG	$y = 159\ 799x + 149$	0.9999	0.74
	AMPA	$y = 150\ 230x + 441$	0.9999	0.78

$n = 6$.

为研究草甘膦和氨甲基膦酸衍生物在不同基质中的基质效应 (Gonzalez et al., 2002), 配制了一系列浓度的基质和溶剂标准溶液, 采用基质标准溶液的线性斜率与溶剂标准溶液线性斜率之比来评价基质效应, 斜率之比 < 1 认为是基质抑制效应, > 1 则为基质增强效应 (赵慧宇 等, 2012)。结果 (表 4) 表明: 斜率比范围在 0.74 ~ 0.99 之间, 总体表现为基质抑制效应, 其中以桃叶片的基质抑制效应最强。为消除或减弱基质效应, 采用空白基质提取液匹配标准溶液外标法定量。

2.5 准确度和精密度

选用不含草甘膦和氨甲基膦酸的空白基质, 通过添加回收试验, 考察了方法的准确度和精密度 ($n = 6$)。草甘膦和氨甲基膦酸在各基质中的添加浓度均为 0.01、0.1 和 1.0 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 添加回收试验结果见表 5。草甘膦和氨甲基膦酸的回收率范围为 76.7% ~ 93.0%, 相对标准偏差 (RSD) 在 2.2% ~ 8.7% 之间, 方法的准确度和精密度良好。

表 5 不同基质中草甘膦 (PMG) 和氨甲基膦酸 (AMPA) 的添加回收率和方法检出限及定量限
Table 5 Average recoveries, limit of detection (LOD) and limit of quantification (LOQ) of PMG and AMPA in different matrixes

基质 Matrixes	化合物 Compound	各添加浓度下的回收率/% Recovery			检出限/ ($\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$) LOD	定量限/ ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) LOQ
		0.01 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	0.1 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	1.0 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$		
黄土 Loess	PMG	82.3 ± 6.7	88.2 ± 6.1	87.3 ± 8.7	0.55	0.01
	AMPA	77.4 ± 5.1	85.3 ± 5.9	88.7 ± 8.2	0.60	0.01
黑土 Black soil	PMG	84.1 ± 5.4	88.7 ± 5.5	88.0 ± 2.3	0.72	0.01
	AMPA	80.2 ± 3.9	84.4 ± 4.8	87.0 ± 5.0	0.80	0.01
红土 Red soil	PMG	83.8 ± 4.9	86.2 ± 4.8	88.3 ± 7.4	0.65	0.01
	AMPA	80.7 ± 3.4	83.3 ± 5.0	89.3 ± 6.8	0.74	0.01
桃果实 Peach fruit	PMG	83.2 ± 4.0	87.8 ± 7.0	85.7 ± 7.7	0.83	0.01
	AMPA	81.5 ± 4.4	86.9 ± 8.6	90.7 ± 7.1	0.88	0.01
桃叶片 Peach leaf	PMG	83.8 ± 4.9	86.2 ± 4.8	93.0 ± 2.2	0.87	0.01
	AMPA	76.7 ± 6.7	83.3 ± 5.0	86.7 ± 3.5	0.91	0.01

$n = 6$.

2.6 方法应用

运用此方法研究了草甘膦在桃园土壤中的迁移代谢情况, 在草甘膦有效成分用量 4740 $\text{g} \cdot \text{hm}^{-2}$, 42 d 的试验周期内, 草甘膦在土壤中的残留量逐渐减少, 半衰期为 9.28 d, 而其代谢物氨甲基膦酸逐渐增大, 在 35 d 时达到最高峰为 0.72 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$; 在桃果实和叶片中的草甘膦和氨甲基膦酸的残留量均逐渐增大, 在 42 d 达到最高峰。

3 结论

建立了桃果实和叶片及土壤 (黄土、黑土、红土) 中草甘膦和氨甲基膦酸的柱前衍生高效液相色谱—串联质谱检测方法, 并对色谱和质谱条件、前处理条件进行了优化。样品经 20.0 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的碳酸氢钠水溶液 (pH 13) 和二氯甲烷共同提取, 以 9-苄基三氯甲烷为衍生剂室温下衍生 3 h, 以乙腈和 10 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 乙酸铵 (含 0.04% 甲酸) 为流动相, 通过高效液相色谱—串联质谱法检测草甘膦和氨甲基膦酸。该方法操作简单, 灵敏度高, 准确度和精密度良好, 适用于草甘膦和氨甲基膦酸的残留检测。

References

- Chamkasem N, Harmon T. 2016. Direct determination of glyphosate, glufosinate, and AMPA in soybean and corn by liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 408 (18): 4995 - 5004.
- Coutinho C F B, Coutinho L F M, Mazo L H, Nixdorf S L, Camara C A P, Lencas F M. 2007. Direct determination of glyphosate using hydrophilic interaction chromatography with coulometric detection at copper microelectrode. *Analytica Chimica Acta*, 592 (1): 30 - 35.
- GB 2763-2014. National food Safety Standard-Maximum Residue Limits for Pesticides in Food. Beijing: China Standard Press. (in Chinese)
GB 2763-2014 食品安全国家标准-食品中农药最大残留限量. 北京: 中国标准出版社.
- Gonzalez E F J, Torres H M E, Lopez A E, L. Rodriguez C L, Vidal M J L. 2002. Matrix-effects of vegetable commodities in electron-capture detection applied to pesticide multi residue analysis. *Journal of Chromatography A*, 966: 155 - 165.
- Hao C Y, Morse D, Morra F, Zhao X M, Yang P, Nunn B. 2011. Direct aqueous determination of glyphosate and related compounds by liquid chromatography/tandem mass spectrometry using reversed-phase and weak anion-exchange mixed-mode column. *Journal of Chromatography A*, 1218: 5638 - 5643.
- Hu Ji-ye, Zhao Dian-ying, Ning Jun, Chen Chang-long, Li Jian-zhong. 2007. Determination of glyphosate residues in soil and apple by capillary gas chromatography with nitrogen-phosphorus detection. *Chinese Journal of Pesticide Science*, 9 (3): 285 - 290. (in Chinese)
胡继业, 赵殿英, 宁君, 陈长龙, 李建中. 2007. 气相色谱-氮磷检测器测定草甘膦在土壤和苹果中的残留量. *农药学报*, 9 (3): 285 - 290.
- Jensen P K, Wujcik C E, McGuire M K. 2016. Validation of reliable and selective methods for direct determination of glyphosate and aminomethylphosphonic acid in milk and urine using LC-MS/MS. *Journal of Environmental Science and Health, Part B*, 51 (4): 254 - 259.
- Jiang Yan, Cao Zhao-yun, Jia Rui-lin, Qi Hui, Chen Ming-xue. 2012. Determination of glyphosate and aminomethylphosphonic acid in rice using hydrophilic interaction chromatography-tandem mass spectrometry. *Chinese Journal of Chromatography*, 30 (1): 39 - 44. (in Chinese)
江燕, 曹赵云, 贾瑞琳, 齐慧, 陈铭学. 2012. 亲水作用色谱-串联质谱法测定稻米中的草甘膦和氨基磷酸残留量. *色谱*, 30 (1): 39 - 44.
- Liu La-ping, Wu Yu, Wang Yu-tang, Zhang Xiao-rong, Liu Zhao-xia, Li Ai-hua. 2015. Determination of glyphosate and its main metabolites aminomethylphosphonic acid in soil sample by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry with pre-column derivatization. *Chinese Journal of Pesticide Science*, 17 (4): 439 - 446. (in Chinese)
刘拉平, 武瑜, 王玉堂, 张晓荣, 刘朝霞, 李爱华. 2015. 柱前衍生高效液相色谱-串联质谱法测定土壤中草甘膦及其主要代谢物氨基磷酸. *农药学报*, 17 (4): 439 - 446.
- Liu Zheng-cai, Cai Chun-ping, Lin Yong-hui, Yang Fang, Liu Su-zhen, Xu Dun-ming, Pan Ying-fen. 2015. Determination of glyphosate and aminomethylphosphonic acid residues in tea by dispersive solid-phase extraction combined with high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Journal of Instrumental Analysis*, 34 (3): 335 - 340. (in Chinese)
刘正才, 蔡春平, 林永辉, 杨方, 刘素珍, 徐敦明, 潘迎芬. 2015. 分散固相萃取/液相色谱-串联质谱法测定茶叶中草甘膦及其代谢物氨基磷酸的残留量. *分析测试学报*, 34 (3): 335 - 340.
- Marques M N, Passos E A, Silva M T S, Correia F O, Santos A M O, Comes S S, Alves J P H. 2009. Determination of glyphosate in water samples by IC. *Journal of Chromatographic Science*, 47 (9): 822 - 824.
- Martins-Junior H A, Lebre D T, Wang A Y, Pires M A F, Bustillos O V. 2009. An alternative and fast method for determination of glyphosate and aminomethylphosphonic acid (AMPA) residues in soybean using liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 23: 1029 - 1034.
- Nortes-Mendez R, Robles-Molina J, Lopez-Blanco R I, Vass A, Molina-Diaz A, Garcia-Reyes J F. 2016. Determination of polar pesticides in olive oil and olives by hydrophilic interaction liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry and high resolution mass spectrometry. *Talanta*, 158: 222 - 228.
- Qiu Hui-min, Geng Jin-ju, Han Chao, Ren Hong-qiang. 2013. Determination of phosphite, phosphate, glyphosate and aminomethylphosphonic acid by two-dimensional ion chromatography system coupled with capillary Ion chromatography. *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, 41 (12): 1910 - 1914. (in Chinese)

- 邱慧敏, 耿金菊, 韩超, 任洪强. 2013. 串联毛细管离子色谱法测定水中亚磷酸根、磷酸根、草甘膦和氨甲基膦酸. *分析化学*, 41 (12): 1910 - 1914.
- Szternfeld P, Malysheva V S, Hanot V, Joly L. 2016. A robust transferable method for the determination of glyphosate residue in liver after derivatization by ultra-high pressure liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Food Analytical Method*, 9: 1173 - 1179.
- Wang Li-gao, Yang Ren-bin, Wei Feng. 2011. Detection method and degradation dynamics of isopropylamine salt of glyphosate in soil. *Hunan Agricultural Sciences*, (23): 85 - 88. (in Chinese)
- 汪立高, 杨仁斌, 魏风. 2011. 土壤中残留草甘膦检测方法及其消解动态研究. *湖南农业科学*, (23): 85 - 88.
- Yang Zhi-feng, Zhang Zhen-ling. 2013. Research progress on reproductive and developmental toxicity of glyphosate. *Journal of Environmental & Occupational Medicine*, 30 (2): 154 - 156. (in Chinese)
- 杨治峰, 张振玲. 2013. 草甘膦生殖发育毒性的研究进展. *环境与职业医学*, 30 (2): 154 - 156.
- Yasushi H, Manami F, Kenji S, Yasuo H. 2003. Determination of the herbicide glyphosate and its metabolite in biological specimens by gas chromatography-mass spectrometry. A case of poisoning by roundup[®] herbicide. *Journal of Analytical Toxicology*, 27 (3): 162 - 166.
- Yoshioka N, Asano M, Kuse A, Mitsuhashi T, Nagasaki Y, Ueno Y. 2011. Rapid determination of glyphosate, glufosinate, bialaphos, and their major metabolites in serum by liquid chromatography-tandem mass spectrometry using hydrophilic interaction chromatography. *Journal of Chromatography A*, 1218: 675 - 680.
- Zhao Hui-yu, Yang Li, Liu Xue-mei, Xue Jia-ying, Jiang Nai-wen, Liu Feng-mao. 2012. Dispersive solid phase extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry for the analysis of fenpropidin residue in banana and grape. *Chinese Journal of Pesticide Science*, 14 (6): 664 - 668. (in Chinese)
- 赵慧宇, 杨莉, 刘雪梅, 薛佳莹, 姜乃文, 刘丰茂. 2012. 分散固相萃取-液相色谱-串联质谱法检测香蕉和葡萄中苯锈啶残留. *农药学报*, 14 (6): 664 - 668.
- Zhou Chui-fan, Li Ying, Zhang Xiao-yong, Yu Yuan-chun. 2013. Research advance in ecotoxicity of glyphosate. *Ecology and Environmental Sciences*, 22 (10): 1737 - 1743. (in Chinese)
- 周垂帆, 李莹, 张晓勇, 俞元春. 2013. 草甘膦毒性研究进展. *生态环境学报*, 22 (10): 1737 - 1743.
- Zhou Shuang, Xu Dun-ming, Lin Li-yi, Chen Lu-ping, Zhou Yu, Yang Li-zhong. 2013. Determination of glyphosate and aminomethylphosphonic acid in plant-derived foodstuff by aqueous normal phase (ANP) chromatography-tandem mass spectrometric method. *Journal of Instrumental Analysis*, 32 (2): 199 - 204. (in Chinese)
- 周爽, 徐敦明, 林立毅, 陈鹭平, 周昱, 杨黎忠. 2013. 反反相色谱-串联质谱法直接测定植物源性食品中草甘膦及其代谢物残留. *分析测试学报*, 32 (2): 199 - 204.
- Zhu Li, Chen Hong-ping, Zhou Su-juan, Wang Chuan-pi, Liu Xin. 2015. Determination of glyphosate, aminomethylphosphonic acid and alufosinate in different teas by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, 43 (2): 271 - 276. (in Chinese)
- 诸力, 陈红平, 周苏娟, 王川丕, 刘新. 2015. 超高效液相色谱-串联质谱法测定不同茶叶中草甘膦、氨甲基膦酸及草铵膦的残留. *分析化学*, 43 (2): 271 - 276.