

固相萃取法用于大豆中取代脲类农药残留量的测定

1 前言

20 世纪 50 年代初发现了灭草隆的除草作用后，此类除草剂的许多品种相继出现，特别是在 60 ~ 70 年代期间，开发出一系列的卤代苯基脲和含氟脲类除草剂，提高了选择性，扩大了杀草谱，在农业生产中被广泛地应用。本文用 SPE400 全自动机械臂固相萃取仪对大豆中取代脲类除草剂的整个检测过程中的净化环节进行了实验。

2 仪器与试剂

2.1 仪器

SPE400 全自动机械臂固相萃取仪、液相色谱-质谱联用仪、粉碎机、离心机、匀浆机、氮吹仪、425um 网筛

2.2 试剂及耗材

乙腈、氯化钠、0.22um 的微孔滤膜，HLB 固相萃取小柱（6ml，填充物 500mg）

3 实验方法

3.1 实验步骤

3.1.1 取样

取代表性大豆样品 500g 用粉碎机粉碎后，全部过 425um 的标准网筛，混匀备用。

3.1.2 提取

称取 5g 试样（精确至 0.01g）于 50mL 具塞离心管中，加入 10mL 水，混匀后放置 1h。

加入过量氯化钠，使水溶液达到饱和，再加入 15mL 乙腈高速均质提取 3min，5000r/min 离心

5min，将乙腈层转移至 25mL 容量瓶中。残渣再用 10mL 乙腈重复提取一次，合并提取液，并用乙腈定容至 25mL。取 5mL 提取液于 15mL 离心管中，45°C下氮气吹至 2mL 待净化。



3.1.3 固相萃取小柱净化

过程	试剂名称	用量	速度	等待时间	空气助推	氮吹时间	次数
活化	乙腈	5mL	3mL/min	0s	2mL	0	1
上样		2mL	3mL/min	0s	2mL	0	1
润洗上样	乙腈	2mL	80mL/min	0s	2mL	0	2
洗脱	乙腈	2mL	3mL/min	5s	5mL	600s	1

将收集的洗脱液置于 45°C下氮气流吹至近干。用乙酸-甲醇 (7+3) 溶液定容于 1mL，漩涡混匀后过 0.22um 的微孔滤膜，供液相色谱-质谱分析备用。

3.1.4 液相色谱测定条件

色谱柱：ACQUITY BEH C₁₈ 色谱柱，50m*2.1mm (内径)，膜厚 1.7um，或相当者；

柱温：40°C；

进样量：10uL；

流动相及梯度洗脱条件见下表：

流动相及梯度洗脱条件

时间 (min)	流速 (mL/min)	0.1%乙酸水溶液	甲醇 (%)
0	0.3	70	30
6	0.3	0	100
7.5	0.3	70	30

3.1.5 质谱测定条件

离子化模式：电喷雾电离正离子模式 (ESI⁺) ；

扫描方式：正离子扫描；

检测方式：多反应监测 (MRM) ；

分辨率：单位分辨率；

3.1.6 色谱测定与确证

每种被测组分选择 1 个母离子，2 个以上子离子，在相同实验条件下，样品中待测物质的保留时间，与基质标准溶液的保留时间偏差在 $\pm 2.5\%$ 之内；且样品中各组分定性离子的相对丰度与浓度接近的基质混合标准工作溶液中对应的定性离子的相对丰度进行比较，偏差不得超过表 2 规定的范围，则可判定为样品中存在对应的待测物。

在仪器最佳工作条件下，对基质混合标准工作溶液进样，以峰面积为纵坐标，基质混合标准工作溶液浓度为横坐标绘制标准工作曲线，用标准工作曲线对样品进行定量，样品溶液中待测物的响应值均应在仪器测定的线性范围内。

定性确证时相对离子丰度的最大允许偏差

相对离子丰度	> 50%	> 20%至 50%	> 10%至 20%	≤10%
允许的相对偏差	±20%	±25%	±30%	±50%

3.1.7 空白实验

除不加试样外，均按上述测定步骤进行。

4 结果与讨论

用固相萃取法净化大豆中取代脲类农药残留量的过程实现自动化处理，减少人力的消耗，实验过程中使用的有机溶剂采用密封处理，降低了对人体的伤害且仪器能精准的控制活化、上样、洗脱等溶剂流速，使样品净化的更为充分。

参考文献

[1] GB 23200.35-2016 食品安全国家标准 植物源性食品中取代脲类农药残留量的测定 液相色谱-质谱法

注意事项

- 1、将 5mL 上层乙腈层直接放入样品管内浓缩，避免了样品转移过程中样品的损失。
- 2、上样后应当对样品管进行 2 次润洗。
- 3、目标物洗脱时将仪器空气助推增加至 5mL，使残留在柱内的洗脱液完全流出。
- 4、实验中用到有毒有害试剂，应当于通风橱内进行，同时实验人员需做好防护措施。