

月旭科技茶叶中草甘膦残留量的检测方法 液相色谱串联质谱法

草甘膦(Glyphosate, GLY) 属内吸传导型广谱灭生性除草剂，能有效防除禾本科、阔叶杂草。因其具有高效、低成本等特点，目前已被广泛用于农业生产。然而研究表明，GLY 具有与有机磷化合物类似的毒理，易被水稻等植物的叶片吸收，除对植株自身合成所需的芳香氨基酸产生较强的抑制作用外，还可通过共生质体而传导至其籽粒等部位，以富集方式危害人畜或生态环境。为此，国际食品法典委员会(Codex Alimentarius Commission, CAC)、欧盟及我国均对大米中的 GLY 残留量有着严格的限量规定。

参考标准：

《SN/T 1923-2007 进出口食品中草甘膦残留量的检测方法 液相色谱-质谱 质谱法》

(1) 试剂与材料：

标准品：草甘膦 (Glyphosate, CAS:1071-83-6, 分子式：C₃H₈NO₅P) 及其同位素内标 (1, 2C¹³N¹⁵ 草甘膦)

试剂：1、5% (体积分数) 硼酸盐缓冲溶液 (pH=9) :称取 5g 硼酸钠 (Na₂B₄O₇ · 10H₂O) ,用水溶解并定容至 100mL。

2、1.0g/L 9-苄基甲基三氯甲烷(FMOC-Cl)丙酮溶液：称取 100mg FMOC-Cl，用丙酮溶解并定容至 100mL。

3、20%氢氧化钾溶液：称取 20g 溶于适量水，并用水稀释至 100mL。

声明:除非另有说明，此报告结果仅对该测试样品负责。本报告未经公司许可，不可复制。

Add:浙江省金华市婺城区双林南街 168 号
邮编：321000

Tel:400-808-6760

E-mail:guodeyong@welchmat.com

4、3mol/L 盐酸溶液、0.3mol/L 溶液：量取 270mL 盐酸，加适量水并稀释至 1000 mL，此溶液浓度为 3mol/L；再用水稀释 10 倍即为 0.3mol/L。

固相萃取柱：C18E(500mg/6mL)

(2) 样品提取：

称取 0.5g 已粉碎的茶叶试样于 50mL 离心管中，加入适量同位素内标工作溶液，加入 10 mL 水，浸泡 0.5h，再加入 10 mL 二氯甲烷，振荡 20min 后 4000r/min 离心 10min。取水层溶液待净化。

(3) 样品净化：

活化：6mL 乙腈，6mL 水及 1 mL 待净化液。

上样：1.5 mL 待分析液。

接收：1.5 mL 待分析液经过 C18E 柱后全部收集，待衍生。

(4) 样品和标准工作液衍生

取混合标准工作溶液和待衍生液各 1.0mL 加入 200 μ L 5%硼酸盐缓冲液，混匀后再分别加入 200 μ L 1.0g/LFMOC-Cl 丙酮溶液，混匀，室温下进行衍生化反应，放置过夜，5000r/min 离心 10min，过 0.22 μ m 滤膜，HPLC-MS/MS 分析。

(5) 仪器条件：

5.1 UPLC 条件

液相色谱型号：Agilent1290

色谱柱：Welch Xtimate UHPLC C18 2.1 \times 100mm, 1.8 μ m

流动相：A: 5mM 乙酸铵水溶液

柱温：35 $^{\circ}$ C

B: 甲醇

流速：0.3mL/min

声明:除非另有说明,此报告结果仅对该测试样品负责。本报告未经公司许可,不可复制。

Add:浙江省金华市婺城区双林南街 168 号

Tel:400-808-6760

邮编:321000

E-mail:guodeyong@welchmat.com

梯度洗脱程序：见表 1。

进样体积：10 μ L

表 1 梯度洗脱程序

时间/min	A 相/%	B 相/%
0.00	90	10
2.00	90	10
4.00	5	95
6.00	5	95
6.01	90	10
8.00	90	10

5.2 质谱条件：

离子源：ESI+

雾化器温度：350 $^{\circ}$ C

雾化器流速：10L/min

鞘气温度：350 $^{\circ}$ C

鞘气流速：12 L/min

采集方式：多反应监测（MRM）

Q1、Q3 均为单位分辨率

液质仪器型号：Agilent LC/MS/MS 6460

表 2 多反应监测模式（MRM）参数

名称	母离子 (m/z)	子离子 (m/z)	驻留时间 (ms)	碰撞电压 (V)	碰撞能量 (V)
草甘膦	392.1	213.9	100	110	5
		88	100		20
1, 2C ¹³ N ¹⁵ 草甘膦	395.1	216.9	100	110	5
		90.9	100		20

声明:除非另有说明,此报告结果仅对该测试样品负责。本报告未经公司许可,不可复制。

Add:浙江省金华市婺城区双林南街 168 号

Tel:400-808-6760

邮编:321000

E-mail:guodeyong@welchmat.com

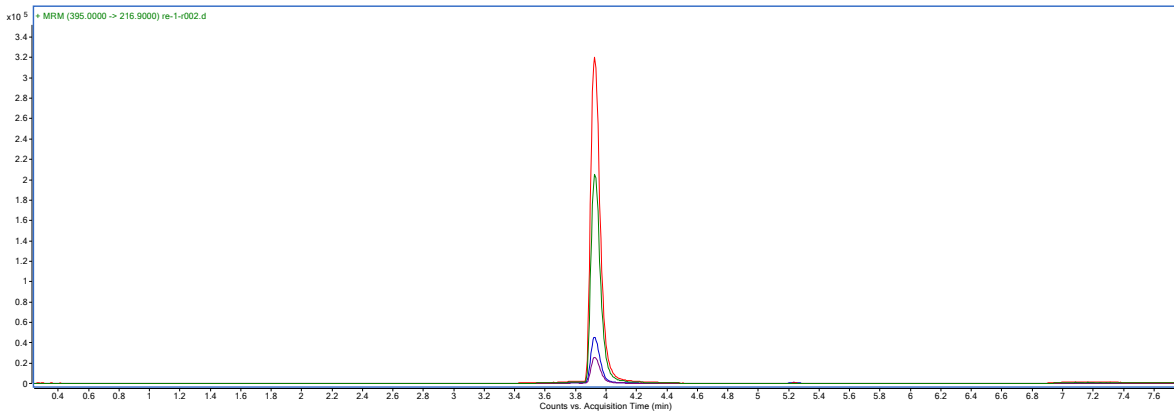


图 1 草甘膦样品加标 0.5mg/kg 液相色谱串联质谱质量色谱图

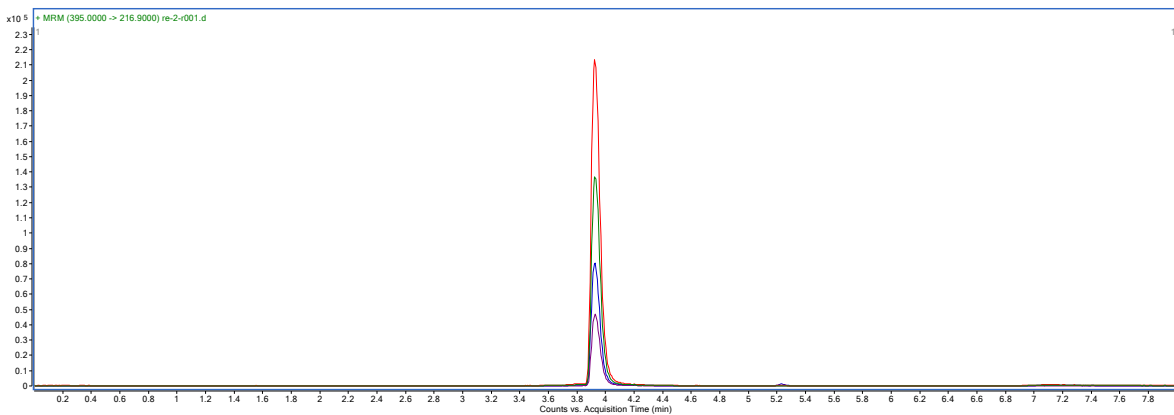


图 2 草甘膦样品加标 1.0mg/kg 液相色谱串联质谱质量色谱图

(6) 实验结果

由表 3 可知，采用固相萃取结合液相色谱-串联质谱法检测茶叶样品中草甘膦，加标量为 0.5、1.0mg/kg 加标回收率为 85.63%、92.51%，能够满足检测要求。由图 1、2 可看出经 C18E 固相萃取柱净化，采用 Welch Xtimate 色谱柱检测能够检测草甘膦，且各物质峰形良好，保留时间稳定。

表 3 草甘膦加标回收实验结果(n=6)

名称	加标量 (mg/kg)	加标回收率 (%)	RSD(%)	RT(min)
草甘膦	0.5	85.63	3.67	3.95
	1.0	92.51	2.69	

声明:除非另有说明,此报告结果仅对该测试样品负责。本报告未经公司许可,不可复制。

Add:浙江省金华市婺城区双林南街 168 号
邮编: 321000

Tel:400-808-6760

E-mail:guodeyong@welchmat.com

(7) 实际样品检测:

为了保证茶叶样品的代表性，选择绿茶（西湖龙井、黄山毛峰、六安瓜片、太平猴魁等）、红茶（祁门红茶等）、黄茶（霍山黄大茶等）、黑茶（湖南安化黑茶、普洱茶等）、青茶（铁观音、大红袍等）、白茶（安吉白茶等）等六大茶类样品进行检测，结果均为未检出。

(8)结论

本实验建立了茶叶中草甘膦残留量检测的 LC-MS/MS 检测方法，并结合固相萃取技术对茶叶中草甘膦的残留量进行了测定。对于加标量为 0.5 和 1.0mg/kg 的样品进行了检测，回收率在 85.63%和 92.51%，符合标准要求，固相萃取方法稳定并且色谱柱重现性良好，说明本方法能够用于检测茶叶中草甘膦残留量。