浙 江 林 业 科 技，2021，41（6）：64－68
J Zhejiang For Sci Technol

doi:10.3969/j.issn.1001-3776.2021.06.010

固相萃取-离子色谱法测定鲜笋中的草甘膦含量

丁敏[1]，方燕[2]，陆军[2]，王衍彬[2]，倪荣新[1]，胡静波[3]，杨柳[2]

（1. 丽水市森林资源保护管理总站，浙江 丽水，323000；2. 浙江省林业科学研究院，浙江 杭州，310023；
3. 淳安县千岛湖林场，浙江 淳安 311700）

摘要：建立了固相萃取-离子色谱法测定毛竹 *Phyllostachys edulis* 冬笋中草甘膦含量的方法：以超纯水为提取剂，高速涡旋振荡器提取，离心后经弗罗里硅土小柱完成净化，再使用高容量阴离子交换柱 IonPac AS19（250 mm × 4 mm）分离，以氢氧化钾（KOH）溶液为流动相，等度淋洗，进样量为 25 μL，柱温为 40℃，流速为 1.0 mL·min^{-1}；以标准溶液的浓度为横坐标，相应峰面积为纵坐标绘制标准曲线为：$y = 0.995\ 9x+0.005\ 8$，以 3 倍噪声为检出限，计算得到检出限为 0.02 mg·kg^{-1}。使用本方法，以低（0.2 mg·kg^{-1}）、中（1.0 mg·kg^{-1}）、高（2.0 mg·kg^{-1}）浓度的草甘膦添加标准溶液的回收率分别为 88.7%、91.4%、91.5%，相对标准偏差为 1.3% ~ 2.5%（$n = 6$）。本方法受其它阴、阳离子及酸碱度条件等影响较小，可满足国家标准的检测要求，且具有灵敏度高，选择性好，操作简单的特点，具有一定的推广价值。

关键词：冬笋；草甘膦；固相萃取；离子色谱法

中图分类号：O657.7　　**文献标识码**：A　　**文章编号**：1001-3776（2021）06-0064-05

Determination of Glyphosate in Fresh Bamboo Shoot by Solid Phase Extraction-Ion Chromatography

DING Min[1]，FANG Yan[2]，LU Jun[2]，WANG Yan-bin[2]，NI Rong-xin[1]，HU Jing-bo[3]，YANG Liu[2]

（1. Lishui Forest Resource Administration of Zhejiang, Lishui 323000, China; 2 .Zhejiang Forestry Academy, Hangzhou 310023, China; 3.Chun’an Thousand Island Lake Forest Farm of Zhejiang, Chun’an 311700, China）

Abstract: Experiments were conducted on determination of glyphosate in fresh bamboo shoot by solid phase extraction ion- chromatography. Extraction was implemented by high speed vortex with extractant of ultrapure water, centrifuged and then purified by florisil column. Separation was made by high capacity anion exchange column, with potassium hydroxide solution as mobile phase with isocratic elution, injection volume of 25 μL, column temperature of 40℃ and flow rate of 1.0 ml/min. The recovery rate of 0.2, 1.0 and 2.0 mg/kg of glyphosate was 88.7%, 91.4% and 91.5%, and the relative standard deviation was 1.3%-2.5% ($n = 6$).

Key words: bamboo shoot; glyphosate; solid phase extraction; ion-chromatography

竹笋是我国长江以南地区的一类常见蔬菜，其独特的品质和口感深受大众喜爱，也是竹农增收、推动山区经济发展的重要支柱产品。近年来，人工除草已成为竹笋抚育的主要方式，在高效益的驱使下，农药、化肥和除草剂的使用量逐年攀升，特别是草甘膦（Glyphosate）的使用[1-3]。草甘膦是 1971 年由 Monsanto 公司开发出

收稿日期：2021-07-03；**修回日期**：2021-10-11
基金项目：浙江省科技厅省属科研院所专项（2021F1065-9）；浙江省重点研发计划项目（2018C02016）
作者简介：丁敏，高级工程师，从事森林培育、经济林加工研究与推广工作；E-mail:68802286@qq.com。通信作者：杨柳，高级工程师，从事食品安全研究；E-mail:yangliuxs@163.com。

在世界农业中具有划时代意义的广谱除草剂，占全球农药总用量的 15%，已成为世界上使用最广、销量最大的化学除草剂[4]。虽然有研究证实草甘膦及其主要代谢产物氨甲基膦酸（AMPA）在短期内不会对植物生长、人类和其他哺乳动物产生明显的负面影响，但长期单一地大量使用仍会给土壤环境[5-6]与人类带来了巨大的潜在风险[7-9]。鉴于此，《食品安全国家标准 食品中农药最大残留限量》（GB2763—2021）对草甘膦在部分农产品中的残留作了明确规定，水果、油脂、茶叶中草甘膦的残留限量分别为 0.1 mg·kg^{-1}、0.05 mg·kg^{-1} 和 1 mg·kg^{-1}。目前，草甘膦残留量的检测方法已有报道[10-11]，主要有分光光度法[12]、气相色谱法[13-14]、气-质联用法[15-17]、液相色谱法[18-19]、液-质联用法等[20-21]和离子色谱法[22-23]，这些方法中气相色谱、气质联用和反相液相色谱分析都需经柱前衍生，如 GB/T 23750—2009、SN/T1923—2007，测试操作难度较大。液-质联用法虽不用衍生，但仪器价格昂贵，检测费用较高，这都为草甘膦的检测带来一定困难。离子色谱法不需要衍生，但主要以水质样品为主，用于测定植物样品中的草甘膦研究较少，这应与植物样品成分相对较复杂，目标物在色谱柱内较难分离，以致在离子色谱检测器端杂峰较多，检出限难以保证有关。而采用固相萃取小柱对提取液做进一步净化处理或可解决这一问题。

草甘膦的使用虽然降低了成本、提高了产量，带来了短期效益，但由此带来的安全问题又成了关注焦点。为此，本文针对草甘膦是可电离物质、在水溶液中带负电荷的特点，以水为提取剂，对毛竹 *Phyllostachys edulis* 冬笋中的草甘膦进行提取，用固相萃取小柱对提取液进行净化处理，并采用离子色谱对冬笋中的草甘膦进行定量分析，建立一种可对竹笋中草甘膦含量进行精准定量测定的方法，以期及时掌握竹笋中的草甘膦含量，为制定这类农产品中相应的限量标准提供科学依据。

1　实验方法

1.1　实验设备与工作条件

DIONEX ICS-2000 离子色谱系统（美国 DIONEX 公司，包括 KOH 淋洗液发生器，ASRS-ULTRA 阴离子抑制器，DS 电导检测器，Chromeleon6.8 色谱工作站），Milli-Q 超纯水系统（电阻率 18.2MΩ.cm），IKA MS3 basic 旋涡混合器，IKA T18 basic 高速分散器，Autoscience AS3 120A 超声波清洗器、离心机(卢湘仪 TGL-20M)，多功能柱（MycoSep 226 AflaZon+），弗罗里硅土柱（SFS10006），氨基柱（1 g，6mL），微孔滤膜（0.45 μm，水相）。

色谱条件：IonPac AS19 分析柱（4 mm×250 mm，美国 Thermo 公司）、IonPac AG19 保护柱（4 mm×50 mm，美国 Thermo 公司）；检测器：ASRS ULTRA 4 mm 抑制电导检测器（美国 Thermo 公司），100 mA 电流自动抑制循环模式。淋洗液：30 mM KOH；柱流速：1.0 mL·min^{-1}；温度：30℃；进样体积：25 μL。

1.2　标准溶液

草甘膦标准溶液（1 000 mg·L^{-1}），购于上海安谱实验科技股份有限公司，使用时用超纯水稀释至相应浓度。

1.3　供试样品与提取方法

供试冬笋为 2020 年新鲜冬笋，购买自杭州市西湖区留下镇世纪联华超市。冬笋样品经自来水冲洗去除泥土等外物后剥离外部笋衣，仅以可食用部分为供试样品，将供试样品进行粉碎、收集供后续实验使用。称取粉碎后的冬笋试样 5.0 g 于 50 mL 离心管中，加入 20 mL 超纯水，高速涡旋 1 min，然后置于离心机中，以 8 000 r·min^{-1} 离心 10 min，取上清液过弗罗里硅土小柱净化，弃去前 5 mL，吸取 2 mL 滤液过 0.45 μm 微孔滤膜于进样瓶中，待上机测定。

1.4　提取方法的选择

分别采用均质、涡旋震荡和超声 3 种提取方式对冬笋中的草甘膦进行提取，并以回收率试验对提取方法进行验证。试验称取粉碎后的冬笋试样 5.0 g 于 50 mL 离心管中，加入草甘膦标准溶液，使样品中的草甘膦浓度均为 1 mg·kg^{-1}，混匀后加入 20 mL 超纯水，分别采用均质（10 000 r·min^{-1}，1 min）、涡旋震荡（3 000 r·min^{-1}，1 min）和超声（4 kHz，30 min）3 种方法对试样中的草甘膦进行提取，待提取完成后置于离心机中，以 8 000 r·min^{-1} 离心 10 min，取上清液过弗罗里硅土小柱净化，弃去前 5 mL 后接于进样瓶中，待上离子色谱仪分析测定。以

回收率对提取方式进行选择，各处理重复 6 次。由于冬笋的含水率均在 80%以上，故在计算回收率时，提取液体积按 24 mL 计算（以下同）。

1.5 净化柱的选择

称取粉碎后的冬笋试样5.0 g于50 mL离心管中，加入草甘膦标准溶液，使样品中的草甘膦浓度均为1 mg·kg^{-1}，加入 20 mL 超纯水，高速涡旋 1 min，然后置于离心机中，以 8 000 r·min^{-1} 离心 10 min，取上清液分别过弗罗里硅土小柱、免疫亲和柱、氨基柱净化，弃去前 5 mL 后接于进样瓶中，待上离子色谱仪分析测定。以回收率对净化柱进行选择，各处理重复 6 次。

1.6 回收率和精密度

称取粉碎后的冬笋试样 5.0 g 多份于 50 mL 离心管中，加入草甘膦标准溶液，使样品中的草甘膦浓度分别为 0.1mg·kg^{-1}、1.0mg·kg^{-1}、2.0mg·kg^{-1}，按 1.4 所述方法进行前处理并上离子色谱仪分析测定。各浓度处理重复 6 次。

2 结果与分析

2.1 提取方式的确定

基于草甘膦不溶于有机溶剂且极性极强的特性，在选择提取剂时，以乙腈-水[20]、纯水[21]较为常见，其中乙腈-水适合脂肪含量较高的样品，纯水更适合以纤维和淀粉、多糖含量为主的植物样品，故本研究选择以纯水为提取试剂。鉴于本研究供试样品的物理性状，如含水量高，干物质以纤维为主等，选择均质、超声和涡旋振荡等农药残留检测的常规提取方法对试验样品进行提取[24]，各处理的 6 次重复的回收率结果如表 1 所示。由表 1 可知，3 种提取方式均能有效地将冬笋中的草甘膦提取出来，回收率均大于 85%，且采用均质和涡旋振荡方法提取的平均回收率都在 90%以上，超声法提取的回收率略低。3 种提取方式的回收率相对标准偏差（RSD，relative standard deviation）也均低于 3%，其中以涡旋振荡的最低，仅为 1.3%，超声的略高，但也仅为 1.8%。试验中超声提取时间设置为 30 min，如适当延长超声时间可提高萃取率。虽然涡旋振荡与均质均能达到相近的提取效果，但考虑到涡旋振荡提取方式更为便捷，故本试验选择涡旋振荡为提取方式。

表 1 不同提取、净化方式对样品中的草甘膦回收率的影响

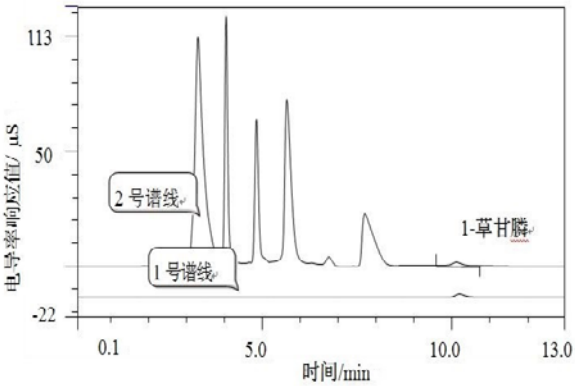
Table 1 Effect of different extraction and purification method on recovery rate

项目	提取方式			净化方式		
	均质提取	涡旋提取	超声提取	多功能柱	弗罗里硅土柱	氨基柱
回收率/%	89.2	92.1	88.5	85.8	92.1	86.4
	91.2	90.1	87.3	89.4	90.1	91.2
	92.3	89.8	89.2	87.5	89.8	88.3
	89.9	92.5	90.1	89.1	92.5	87.5
	89.3	91.2	85.4	87.6	91.2	90.2
	91.5	92.5	87.8	90.2	92.5	91.5
平均/%	90.6	91.4	88.1	88.3	91.4	89.2
RSD/%	1.4	1.3	1.8	1.8	1.3	2.3

2.2 净化柱的确定

冬笋提取液中含有大量的可溶性固形物、蛋白质、色素等物质，可能会对检测结果产生较大的不良影响，应采用相应方法去除这类物质，而固相萃取法则是常见的农药残留净化方法。本研究即选用了可有效吸附这类大分子物质的固相小柱—多功能柱、弗罗里硅土柱和氨基柱对冬笋提取液进行净化处理，经测定得到这 3 种净化方法的回收率，结果如表 1。由表 1 可知，3 种处理方式均能使提取液中的草甘膦得以净化，回收率均在 85%以上，其中又以弗罗里硅土柱净化后的回收率最高，其平均回收率可达 91.4%，多功能柱净化后的回收率略低。3 种净化方法的回收率相对标准偏差也均低于 3%，其中以弗罗里硅土柱的最低，仅为 1.3%，氨基柱的相对较高，为 2.3%。净化处理可有效去除提取液中的大部分糖类、蛋白质、单宁、黄酮等物质，使得草甘膦色谱峰形独立、

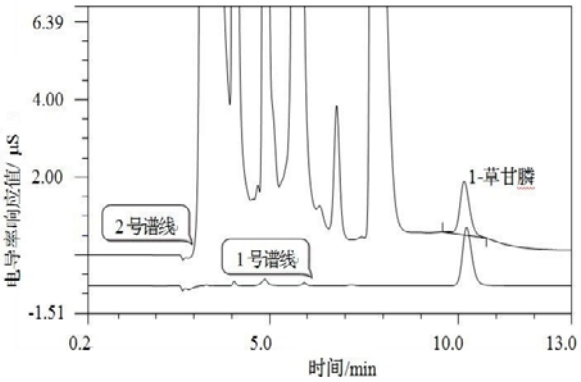
完整，从而降低检出限、提升精密度。本次试验中，虽然 3 种净化方法均有良好的回收率，但结合相对标准偏差，本试验选择弗罗里硅土柱为净化柱，所得样品谱图如图 1、图 2 所示。分别为 0.2 μg·mL^{-1} 草甘膦标准溶液谱图（1 号谱线）和与标准溶液浓度相等的测定液谱图（2 号谱线）。



注：1 号谱线为标准溶液测定谱图，2 号谱线为样品测定液谱图。

图 1　浓度为 0.2 μg·mL^{-1} 的标准溶液和样品测定液谱图

Figure 1　Spectrogram of standard solution with concentration of 0.2μg/mL and sample



注：1 号谱线为标准溶液测定谱图，2 号谱线为样品测定液谱图。

图 2　草甘膦出峰位置局部放大图

Figure 2　Partial enlarged detail of peak position of glyphosate

2.3　工作曲线与检出限

将冬笋空白样品按 1.3 节所述方法进行处理，收集过弗罗里硅土小柱净化后的净化处理液并过 0.45 μm 微孔滤膜，得冬笋基质提取液。用冬笋基质提取液将草甘膦分别配制成 0.1、0.2、0.6、1.2、2.0 μg·mL^{-1} 的标准溶液，按照 1.2 节所述色谱条件进样分析，以浓度为横坐标、峰面积为纵坐标，绘制标准曲线。分别将浓度为 0.1、0.2、0.6、1.2、2.0 μg·mL^{-1} 的草甘膦标准溶液上离子色谱仪分析测定，以标准溶液的浓度为横坐标，相应峰面积为纵坐标绘制标准曲线为：$y = 0.995\,9x+0.005\,8$，以 3 倍噪声为检出限，计算得到检出限为 0.02 mg·kg^{-1}。

2.4　回收率与精密度

在冬笋样品中分别添加浓度为 0.2 mg·kg^{-1}、1.0 mg·kg^{-1}、2.0 mg·kg^{-1} 的草甘膦标准溶液，按照上述最优方法进提取、检测，重复 6 次，测定其回收率与精密度。

对添加草甘膦浓度为 0.2 mg·kg^{-1}、1.0 mg·kg^{-1}、2.0 mg·kg^{-1} 的冬笋样品，按照 1.3 节所述方法进提取、检测，各处理重复 6 次，测定其回收率与精密度，结果如表 2 所示。由表 2 可知，高、中、低浓度的草甘膦平均回收率在 86%～93%，变异系数≤2.5%，说明该方法回收率好，精密度高，可满足冬笋中草甘膦残留的测定。

表 2　草甘膦回收率和精密度

Table 2　Recovery rate of glyphosate and accuracy

项目	0.2 mg·kg^{-1} 草甘膦		1 mg·kg^{-1} 草甘膦		2 mg·kg^{-1} 草甘膦	
	测定值/（mg·kg^{-1}）	回收率/%	测定值/（mg·kg^{-1}）	回收率/%	测定值/（mg·kg^{-1}）	回收率/%
检测值	0.172	86.1	0.92	92.1	1.84	92.1
	0.178	89.2	0.90	90.1	1.87	93.5
	0.176	87.9	0.90	89.8	1.84	92.1
	0.180	90.1	0.93	92.5	1.80	90.2
	0.184	92.1	0.91	91.2	1.78	89.2
	0.174	87.0	0.93	92.5	1.84	92.1
平均	0.178	88.73	0.91	91.37	1.83	91.53
RSD/%	2.47		1.31		1.7	

3　小结与讨论

以超纯水为提取剂，采用高速涡旋振荡法对冬笋中的草甘膦进行提取，经离心、弗罗里硅土小柱净化后上

离子色谱仪分析测定，基质外标法定量，建立了固相萃取-离子色谱法测定竹笋中的草甘膦。3 种提取方法中，涡旋振荡提取法通常适用于附着在样品表面的农药以及叶类样品中的非内吸性农药，草甘膦虽为内吸性农药，但其水溶性极强，且鲜笋样品中含水量高，干物质以纤维等亲水物质为主，同时，本方法提取剂为超纯水，这是涡旋振荡法成为本方法选用的客观因素。超声提取和均质提取均可作为本研究的提取方法，超声更适用于批量处理。本研究方法前处理简单，选择性好，灵敏度高，有机溶剂消耗量小，样品无需使用酸碱试剂调节 pH，无需衍生，快速准确，用于鲜笋中草甘膦的快速测定，具有一定的推广价值。

参考文献：

[1] 毛美红，俞婷婷，傅柳方. 草甘膦对毛竹笋用林土壤理化性质的影响分析[J]. 竹子研究汇刊，2011，30（3）：29－32.
[2] 周东雄，魏淦. 毛竹低产林应用草甘膦除草效益[J]. 经济林研究，1994（1）：72－73.
[3] 胡春辉，李明红，文国华，等. 四种除草剂对毛竹生长影响初探[J]. 湖南林业科技，2010，37（3）：55－56.
[4] 杨田甜，申继忠（译）. 草甘膦除草剂在美国和全球的使用趋势[J]. 中国农药，2017（1）：55－64.
[5] 呼蕾，和文祥，王旭东，等. 草甘膦的土壤酶效应研究[J]. 农业环境科学学报，2009，28（4）：680－685.
[6] 吴雪楠，孙菁菁，罗园园，等. 草甘膦对土壤微生物能量代谢的影响[J]. 化学与生物工程，2016，33（4）：18－21.
[7] 戚荣平，邱晓枫，孟琪，等. 离子色谱法测定水中草甘膦含量[J]. 中国卫生检验杂志，2011，21（4）：820－821.
[8] 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.
[9] 窦建瑞，钱晓勤，毛一扬，等. 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.
[10] 刘晓玉，肖珊珊，李军，等. 食品和水质中草甘膦检测方法及研究进展[J]. 食品安全质量检测学报，2015，6（6）：2241－2246.
[11] 马为民, 林小虎，马卫东，等. 草甘膦和氨甲基膦酸残留量检测方法研究进展[J]. 农药，2008，47（8）：554－557.
[12] 汪海萍，邵燕，王志良，等. 分光光度法测定废水中草甘膦的探讨[J]. 环境监测管理与技术，2012，24（3）：56－59.
[13] 马为民，牛森，李东运，等. 气相色谱法测定几种蔬菜水果中草甘膦残留[J]. 农药，2006，45（4）：261－262.
[14] 胡继业，赵殿英，宁君，等. 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[J]. 农药学学报，2007，9（3）：285－290.
[15] HORI Y，FUJISAWA M，SHIIMADA K，et al. Determination of glufosinate ammonium and its metabolite, 3-methylpho-hinicopropionic acid, in human serum by gas chromatography-mass spectrometry following mixed-mode sold-phase extraction and t-BDMS derivatization[J]. J Anal Toxicol，2001，25（6）：680－684.
[16] HORI Y，FUJISAWA M，SHIIMADA K，et al. Detennination of the herbicide glyphosate and its metabolite in biological specimens by gas chromatography-mass spectrometry. A case of poisoning by roundup herbicide[J]. J Anal Toxicol，2003，27（2）：162－166.
[17] 程雪梅，周敏. 气相色谱-质谱法测定香蕉和灌溉水中的草甘膦及其代谢物的残留量[J]. 色谱，2004，22（3）：288－288.
[18] 陈际，袁晓静，胡家琦，等. 柱后衍生-高效 液相色谱法测水中草甘膦[J]. 化工管理，2014（27）：44－45.
[19] 侯占伟，王朝虹. 高效液相色谱法测定水中的草甘膦[J]. 刑事技术，2003（6）：9－10.
[20] 诸骏杰，孙文闪，周婷婷，等. 一种快速测定植物油中的草铵膦、草甘膦及其代谢物氨甲基膦酸残留的方法[J]. 色谱，2020，18（4）：478－483.
[21] 户江涛. 超高效液相色谱-串联质谱法测定大豆中草甘膦及其代谢物氨甲基膦酸的残留[J]. 分析仪器，2018（1）：131－135.
[22] 刘玉欣，李锦，常凤启，等. 离 子色谱法检测饮用水中的草甘膦[J]. 岩矿测试，2011，30（3）：361－363.
[23] 王海涛 赵钰玲 陆地，等. 淋洗液在线发生离子色谱法测定水中的草甘膦[J]. 食品研究与开发，2013，30（22）：43－45.
[24] 王慧卿，于劲松，徐斐，等. 食品农药残留检测中样品前处理技术研究进展[J]. 广东农业科学，2013（8）：111－114.