

凝胶渗透色谱-气相色谱-质谱测定玉米中 3 种农药的残留

张伟国 高金山 陈姗姗 李重九*

(中国农业大学理学院, 北京 100094)

摘要 建立以凝胶渗透色谱 (GPC) 和气相色谱-质谱 (GC/MS) 联用技术测定玉米中三唑酮、三唑醇-a、三唑醇-b 残留量的方法。目标农药经乙腈提取, 共提物中的油脂经液-液分配、GPC 加以去除, 叶黄素通过固相萃取 (SPE) 净化。目标农药采用 GC/MS/SM 方式进行定性、定量分析。3 种农药 (0.05、0.5、2 $\mu\text{g/g}$) 的回收率在 90% ~ 110%; 相对标准偏差 (RSD) < 10%。

关键词 凝胶渗透色谱, 气相色谱-质谱, 三唑酮, 三唑醇-a, 三唑醇-b, 玉米

1 引言

三唑酮和三唑醇为高效、低毒、低残留的内吸性杀菌剂, 用于预防和消除玉米全蚀病和黑穗病。三唑酮在植物体内代谢为三唑醇-a。当前关于三唑酮和三唑醇的检测方法多数只对其中的一种农药进行检测, 还未见对三唑酮、三唑醇-a 和三唑醇-b 残留量同时分析的相关报道^[1-3]。

玉米主要干扰物为油脂、色素。这些高沸点的物质沉积在进样口和柱头中, 占据活性位点, 而导致色谱分离能力降低, 同时产生基质增强效应 (matrix-induced chromatographic response effect)^[4-7]。因此有效的去除油脂、色素的干扰, 保证 3 种化合物的回收率, 具有一定的难度。本方法采用液液分配去除共提物中的大部分油脂, 使用凝胶渗透色谱去除剩余油脂及部分叶黄素, 使用 Envi-Carb 小柱去除剩余叶黄素的干扰, 得到了理想的净化效果, 3 种农药的回收率 (添加浓度为 0.05、0.5、2 $\mu\text{g/g}$) 高于 90%; 相对标准偏差小于 10%; 检出限分别为 0.002、0.01 $\mu\text{g/g}$ 和 0.05 $\mu\text{g/g}$ 。

2 实验部分

2.1 仪器与试剂

2000 型气相色谱质谱仪 (美国 瓦里安公司); 250VF-5 MS 毛细管柱 (30 m \times 0.25 mm \times 0.25 μm); 凝胶渗透色谱, 泵为 LabAlliance Series 3, 柱 (250 mm \times 15 mm) 填料为 SX-3; 固相萃取柱: SUPELCO ENVI-Carb 柱 (0.5 g/6 mL); 旋转蒸发仪: EYEL4。

乙腈、正己烷、乙酸乙酯和环己烷为分析纯 (天津康科德公司); 三唑醇 (95%)、三唑酮-a, b (95%) 由农业部农药检定所提供; 用环己烷-丙酮 (90/10, V/V) 配制成 500 mg/L 储备液。

2.2 色谱、质谱条件

2.2.1 气相色谱条件 载气: 氦气; 柱流速: 1 mL/min; 进样口温度: 250 $^{\circ}\text{C}$; 程序升温: 初始温度 100 $^{\circ}\text{C}$, 保持 1 min, 以 15 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 的速度, 升温至 280 $^{\circ}\text{C}$, 保持 10 min。

2.2.2 质谱条件 传输线温度 260 $^{\circ}\text{C}$; 离子阱温度 190 $^{\circ}\text{C}$; 真空室温度 80 $^{\circ}\text{C}$; 离子化方式: EI; 质谱检测方式: 选择离子监测, 条件见表 1。

2.3 分析步骤

准确称取 15 g 玉米粉于 250 mL 锥形瓶中, 加入 3 g 无水硫酸钠、40 mL 乙腈, 振荡 30 min。上清液用 40 mL 正己烷振荡萃取除去油脂后, 乙腈液浓缩近干。用乙酸乙酯-环己烷 (1/1, V/V) 溶解, 并定容于 3 mL。取 2 mL 于 GPC 柱中, 用 25 mL 乙酸乙酯-环己烷 (1/1, V/V) 淋洗油脂后, 收集后 36 mL 馏分, 浓缩近 1 mL。上样到 SPE 柱上, 以 10 mL 乙酸乙酯-环己烷 (8/2, V/V) 淋洗, 浓缩, 用环己烷准确定容于 1 mL, 待检测。

2004-10-19 收稿; 2005-04-14 接受

表 1 选择离子检测模式下的质谱参数

Table 1 Segement of ions for selected ion monitor (SM) acquisition

农药 Pesticides	扫描窗口 Segment	保留时间 Retention time (min)	定性离子 (丰度) Identification Ions (m/z , %) (relative abundance)	定量离子 Quant Ions (m/z)
三唑酮 Triadimefon	1	14.89	210(32.5) 208(100) 181(21.5)	208
三唑醇-a Triadimenol-a	2	15.65	168(80.2) 128(53.5) 112(100)	112
三唑醇-b Triadimenol-b	15.58			

3 结果与讨论

3.1 净化方法的选择

三唑醇为强极性的农药,用传统的过层析柱方法,净化效果差,回收率低。本实验采用了新的净化技术 凝胶渗透色谱法(GPC)用以去除样品中的大分子干扰。在实验中发现 GPC 的净化效率受上样量影响。上样量多,油脂、色素在 GPC 柱上的脱尾严重,净化效果差。采用本实验添装的 GPC 柱,10 g 玉米样品全部上样,通过紫外检测发现油脂、色素的净化效率为 60%。在实验中还发现,在有基质干扰时,目标农药会提前流出,导致回收率降低。为了得到理想的结果,本实验采用液液分离去除一部分油脂后,采用 GPC 去除剩余的油脂和大部分的色素。

油脂去除后,样品中含有少量的色素,仍会对质谱检测器产生污染。本实验采用 Envi-carb 小柱作为净化柱,10 mL 乙酸乙酯 环己烷 (80/20, V/V) 为淋洗液,大部分色素保持在柱中,目标化合物被淋洗下来。实验发现,淋洗速度对净化效果有直接的影响,淋洗速度过快,较多的色素会随着农药同时淋洗下来,速度保持在每秒一滴时净化效果较为理想。

3.2 监测离子的选择

由于本实验采用的质谱检测器为内置式离子阱质谱,在进行选择离子扫描时,某些未选择的离子不能彻底的从阱中甩出,从而产生对目标化合物的干扰。因此在质谱的方法设置时,每个窗口只设置一个质量数的宽度,以降低引入其它离子的几率。设置分段程序时,每个扫描时间段(segment)内只扫描一种农药,以降低产生干扰的可能性。为了达到更低的方法检出限,选择基峰和较高丰度的离子作为监测离子,对每一个离子,分析其在样品中的提取色谱图,确保样品在目标农药处不含干扰峰。

3.4 基质效应的评价

按照 2.3 所述过程制作的不含农药的空白玉米样本基质溶液稀释农药储备液,并与等同浓度的用纯溶剂配制农药标准溶液比较,峰面积未发现明显的变化,证明基质效应基本消除。

3.5 方法的线性范围、回收率和检出限

准确配制含量分别为 0.2、0.5、1、2、5、10 和 20 mg/L 的农药标准溶液。按 2.2 条件进行分析,得出各种农药的含量对峰面积的校准曲线(见表 2)。

在空白玉米样品中分别添加 0.05、0.5 和 2 $\mu\text{g/g}$ 的混合标准品,每个浓度重复实验 3 次,得出各农药回收率及标准偏差(见表 2)。

按照 2.3 所述过程处理添加的玉米样品(0.05、0.5、2 $\mu\text{g/g}$),相当于 10 g 样品最终定容为 1 mL,以信噪比 3 倍设定最低检出限时,方法中三唑酮检出限为 0.002 $\mu\text{g/g}$;三唑醇-a, 0.01 $\mu\text{g/g}$;三唑醇-b 为 0.05 $\mu\text{g/g}$ 。

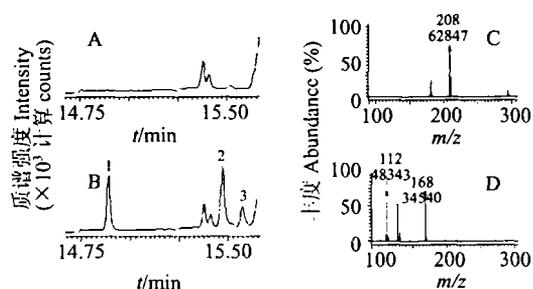


图 1 (A) 不含农药的空白玉米样本色谱图; (B) 添加农药到玉米空白样本后的色谱图(1. 三唑酮、2 三唑醇-a、3 三唑醇-b); (C) 三唑酮在选择离子监测模式下扫描的质谱图; (D) 三唑醇-a、b 在选择离子监测模式下扫描的质谱图

Fig 1 (A) Chromatogram of blank com sample; (B) Chromatogram of spiked pesticides in com sample (1. triadimefon, 2 triadimenol-a, 3 triadimenol-b); (C) Spectrum of triadimefon in SM mode; (D) Spectrum of triadimenol-a, b in SM mode

表 2 三唑酮、三唑醇 a 和三唑醇 b 的线性方程、相关系数、线性范围、回收率、相对标准偏差和检出限

Table 2 Lineation, correlation coefficient, linear range, recovery, RSD and detection limit of triadimefon, triadimenol-a, triadimenol-b

农药 Pesticides	线性方程 Linear equation	相关系数 Correlation coefficient	线性范围 Linear range (mg/L)	回收率 Recovery (%)			RSD (%)	检出限 Detection limit ($\mu\text{g/g}$)
				0.05 $\mu\text{g/g}$	0.5 $\mu\text{g/g}$	2 $\mu\text{g/g}$		
三唑酮 Triadimefon	$Y = 18748X + 719.6$	0.9983	0.2 ~ 20	100.5	96.8	101.9	4.59	0.002
三唑醇-a Triadimenol-a	$Y = 12385X - 12307$	0.9902	0.2 ~ 20	92.9	105.9	105	8.43	0.01
三唑醇-b Triadimenol-b	$Y = 6789.9X - 6662$	0.9966	0.5 ~ 20	95.1	99.9	97.4	9.57	0.05

References

- Zhou Yu (周昱), Lin Liyi (林立毅). *Chinese J. Anal. Chem.* (分析化学), **1997**, 25: 510 ~ 514
- Xu Hong (许泓), Lin Anqing (林安清), Gu Long (古珑). *Journal of Instrumental Analyst* (分析测试学报), **2004**, 23 (3): 34 ~ 38
- Hu Xiaozhong (胡小钟), Chu Xiaogang (储晓刚), Yu Jianxin (余建新). *Journal of Instrumental Analyst* (分析测试学报), **2003**, 22 (6): 26 ~ 31
- Hajšlov ĀJ, Zrostl ĀKov ĀJ. *J. Chromatogr. A.*, **2003**, 1000: 181 ~ 197
- Anastassiades M, Maštovska ĀK, Lehota S J. *J. Chromatogr. A.*, **2003**, 1015: 163 ~ 184
- Schenck F J, Lehota S J. *J. Chromatogr. A.*, **2000**, 868: 51 ~ 61
- Soboleva E, Ambrus Ā. *J. Chromatogr. A.*, **2004**, 1027: 55 ~ 65

Determination of Residual Triadimefon, Triadimenol-a, Triadimenol-b in Corn by Gel Permeation Chromatography and Gas Chromatography/Mass Spectrometry

Zhang Weiguo, Gao Jinshan, Chen Shanshan, Li Chongjiu*
(College of Science, China Agricultural University, Beijing 100094)

Abstract A method for simultaneous determination of triadimefon, triadimenol-a, triadimenol-b residues in corn is described. The pesticides were extracted using acetonitrile from sample. Most of lipids in co-extractives were removed by liquid-liquid extraction and gel permeation chromatography. Lutein was removed using solid-phase extraction on a Envi-carb column. The pesticides were finally determined by gas chromatography/mass spectrometry in selective-ion Monitor (SIM) simultaneously. The average recoveries (spiked level 0.05, 0.5 and 2 $\mu\text{g/g}$) were between 90% and 110%. The relative standard deviation of the method was less than 10% in every case.

Keywords Gel permeation chromatography, gas chromatography-mass spectrometry, triadimefon, triadimenol-a, triadimenol-b, corn

(Received 19 October 2004; accepted 14 April 2005)