

河水中抑霉唑的 SPE-RP-HPLC 动态分析

高智席¹, 牟青松¹, 江忠远¹, 曾启华¹, 唐国风¹, 敖克厚¹, 黎 司²

(1. 遵义师范学院化学系, 贵州 遵义 563002; 2. 重庆大学 三峡库区生态环境教育部重点实验室, 重庆 400030)

摘 要: 建立固相萃取-反相高效液相色谱法测定河水中抑霉唑的动态分析方法。色谱柱为 Shim-pack VP-ODS 150 mm × 4.6 mm, 流动相为 $V(\text{甲醇})/V(\text{离子对水溶液}) = 75/25$, 流速为 0.85 mL/min, 进样量 20 μL 。抑霉唑在 15.0~960.0 $\mu\text{g/kg}$ ($r = 0.9994$) 浓度范围内与峰面积成良好线性关系, 检测限为 5 $\mu\text{g/kg}$, 抑霉唑的回收率为 87.6%~101.3%, 相对标准偏差 1.7%~2.77%。该方法操作简便快速, 可作为河水中抑霉唑含量监测的控制方法。

关键词: 河水; 固相萃取; 抑霉唑; 反相高效液相色谱

中图分类号: O 657.7 **文献标志码:** A

文章编号: 0367-6358(2011)11-0657-03

Dynamic Analysis of Imazalil in River Water by RP-HPLC with Solid-phase Extraction

GAO Zhixi¹, MU Qingsong¹, JIANG Zhongyuan¹, ZENG Qihua¹,
TANG Guofeng¹, AO Kehou¹, LI Si²

(1. Chemistry Department of Zunyi Normal College, Guizhou Zunyi 563002, China;

2. Key Laboratory of the Three Gorges Reservoir Region's Eco-environment,

Ministry of Education, Chongqing University, Chongqing 400030, China)

Abstract: A reversed-phase high performance liquid chromatographic method with solid-phase extraction was used for the residue dynamic analysis of imazalil in river water. The HPLC conditions were as follows: column of Shim-pack VP-ODS 150 mm × 4.6 mm, $V(\text{CH}_3\text{OH})/V(\text{H}_2\text{O}) = 75/25$ as mobile phase, flow rate 0.85 mL/min and injection volume 20 μL . Good linearity of azoxystrobin was obtained over the range of 15.0~960.0 $\mu\text{g/kg}$ ($r = 0.9994$). The detection limits were 5.0 $\mu\text{g/kg}$ for imazalil. The average recoveries ranged from 87.6%~101.3% with relative standard deviation of 1.7%~2.77%. The method is fast and simple for the residue detection and analysis of imazalil in river water.

Key words: river water; solid-phase extraction; imazalil; RP-HPLC

抑霉唑[烯丙基 1-(2,4-二氯苯基)-2-咪唑-1-基乙基醚]是近年来开发的一种结构新颖、作用机制独特、高效、低毒和广谱的嘧啶胺类内吸性杀菌剂,并具有预防和治疗作用。对侵袭谷物、水果和蔬菜的病原体-交链孢、寄生霜霉、灰霉枝孢和霉根霉等具

有良好的抑杀作用^[1]。因此,这类杀菌剂被广泛应用于庄稼收获前和收获后的生产、储存及保鲜过程中。但其在土壤、水以及作物中仍有一些残留,对人、畜有一定的毒副作用。

通常测定抑霉唑的方法有高效液相色谱法^[2-5]、

收稿日期: 2011-07-06; 修回日期: 2011-10-06

基金项目: 贵州省科技厅攻关项目(黔科合 SY 字[2009]3050); 贵州省教育厅自然科学项目([2010]085); 贵州省遵义市科技局项目([2011]11)。

作者简介: 高智席(1969~), 男, 副教授, 重庆万州人, 主要从事仪器分析教学科研工作。E-mail: wyhgzx@163.com

气相色谱法^[6-12], 气相色谱-质谱联用法^[13-15]等。但文献中没有报道关于河水中抑霉唑动态分析的高效液相色谱测定方法。已报道的, 用于其他蔬菜水果的前处理方法都比较繁琐。本文建立了固相萃取反相高效液相色谱分离, 二极管阵列检测器测定河水中抑霉唑动态分析的方法。具有很好的灵敏度和重现性。

1 材料与方法

1.1 仪器和试剂

日本 Shimadzu LG-2010AT 型高效液相色谱仪, LC solution 色谱工作站, CBM-20A 系统控制器, SPD-M20A 二极管阵列检测器, SIL-20A 自动进样器, SY3200 超声波清洗器(上海声源超声波仪器设备有限公司生产), EYELAN-1 型旋转蒸发器(德国 Heidolph 公司生产), 电子天平(上海越平科学仪器有限公司), DS-1 高速组织捣碎机(上海标本模型厂生产), THZ-82A 型振荡机(江苏富华仪器有限公司生产), DHG-9070A 型新型电热恒温鼓风干燥箱(宁波江南仪器厂生产), 混合阳离子固相萃取柱(PCX, HRXC, 60 mg, 3 mL), 24DL 固相萃取装置(Visiprep 公司), 微孔过滤装置。

抑霉唑标准品(含量 $\geq 99\%$)(国家标准物质标准样品信息中心), 无水硫酸钠(AR, 130℃烘 2 h, 贮于干燥器中备用)、甲醇(AR)、磷酸(95% AR)和正己烷(AR), 乙酸乙酯(AR); 磷酸二氢钠(99% AR), 二次蒸馏水。所有溶液使用前均由 0.45 μm 孔径的滤膜过滤。离子对溶液: 称 4.45 g $\text{Na}_2\text{H}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 溶于 1 000 mL 二次蒸馏水中, 滴加 85% 磷酸调至 $\text{pH} \approx 2.5$, 摇匀, 超声振荡 15 min, 用 0.45 μm 的孔径滤膜过滤, 备用。河水样品(赤水河取样), 保存在冷藏柜里(0~5℃)。

1.2 色谱条件

色谱柱: Shim-pack VP-ODS (150 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇/离子对水溶液($\text{pH} \approx 2.5$) = 75: 25(V/V); 紫外检测波长: 229 nm; 流速: 0.85 mL/min; 柱温: 室温; 进样量: 20 μL 。

1.3 样品前处理及测定

1.3.1 标准溶液的配制

准确称取抑霉唑标准品 0.0401 g (精确至 0.0001 g), 置于 50 mL 容量瓶中, 用甲醇溶解并定容至刻度, 摇匀后即为质量浓度为 802 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 抑霉唑的储备液。用移液管准确移取不同体积的抑霉唑标准溶液分别置于 25 mL 的容量瓶中, 再用甲醇定容得一系列不同浓度的抑霉唑标准溶液, 摇匀并贴上标签, 保存(0~5℃), 备用。

1.3.2 样品前处理

各称取水样 5.00 g (精确到 0.01 g) 置于带盖塑料离心管中, 准确加入 30 mL 乙酸乙酯/环己烷($V/V = 1/1$)和 2 g 氯化钠, 在涡旋混合器上涡旋 1 min, 超声振荡 20 min, 在 10000 r/min 离心机上离心 10 min, 取上清液净化。

分别用 3 mL 甲醇, 3 mL 水活化混合型阳离子交换固相萃取柱, 准确移取 3 mL (具体由样品含量高低来确定) 离心上清液分别上 PCX 固相萃取柱, 过柱速度 1 mL/min 以内。再用 3 mL 水和 3 mL 甲醇洗涤混合型阳离子交换固相萃取柱^[16], 抽近干后用氨水甲醇溶液 5 mL 洗脱。在 40℃条件下用氮气吹干, 准确加入 1.00 mL 甲醇溶液, 涡旋振荡 1 min, 过 0.45 μm 滤膜, 待测定。

2 结果与讨论

2.1 检测波长的选择

利用二极管阵列检测器在线扫描配制好的抑霉唑标准溶液, 可得到抑霉唑的吸收波长响应值的紫外吸收图谱, 同时考虑到抑霉唑本身以及溶剂、基体干扰、灵敏度、当吸收波长小于 220 nm 时, 吸收干扰较大等因素。因此, 选择 229 nm 作为本方法的最适检测波长。

2.2 流动相的选择

分别以乙腈/离子对溶液、甲醇/离子对溶液、乙腈/水和甲醇/水体系作流动相进行比较, 发现甲醇/离子对溶液作流动相时, 抑霉唑与其杂质分离完全且峰形对称; 再经过比较不同配比的甲醇/离子对溶液体系^[4], 发现甲醇/离子对溶液 = 75: 25(V/V) 时, 柱效最高, 保留时间适宜。

2.3 流速的选择

在上述流动相和检测波长条件下, 以 0.30 至 1.30 mL/min 的不同流速进行测定, 分析比较发现在 0.85 mL/min 流速下的抑霉唑液相色谱峰形较好、出峰时间较早, 故选择 0.85 mL/min 为检测流速。

2.4 线性范围及检出限

按照上述色谱条件, 制作了抑霉唑标准曲线, 经过回归, 得到其线性方程为 $y = 15.502x - 290.38$, $r = 0.9994$ 。线性范围为 15~960.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。抑霉唑标准谱图见图 1, 标准出峰在 2.1765 min。用标准工作曲线的最低浓度点, 按上述色谱条件测定 6 次, 得一组低浓度标准峰面积, 求出其标准偏差, 以 3 倍标准偏差除以方法的灵敏度, 即得方法的检出限为 5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。抑霉唑标样色谱图和样品色谱图见图 1、图 2 所示。

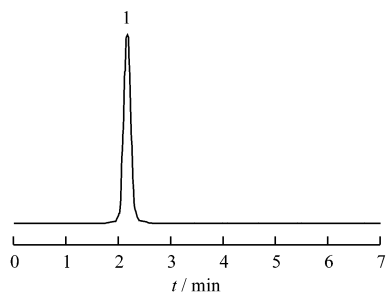


图 1 标准品抑霉唑的色谱图

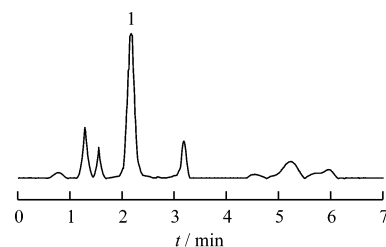


图 2 水样中抑霉唑的色谱图

2.5 方法的精密度和回收率

在选定的色谱条件下进行添加回收实验,水样分别以 0.01、0.05、0.1 mg/kg 3 个添加水平,按照样品处理方法进行提取净化,测定抑霉唑含量,计算回收率见表 1。水样中抑霉唑添加回收率在 87.6% ~ 101.3%, RSD($n=3$) 为 1.7% ~ 2.77%,方法的回收率和标准偏差符合国内外有关标准和法规的要求。在选定的色谱条件下,质量浓度 40 $\mu\text{g/mL}$ 的标准品连续测定 5 次,保留时间和峰面积的 RSD 分别为 0.15% ($n=5$)。因此,本方法具有很高的灵敏度与精密度,重复性好,回收率稳定,可以为河水样品中抑霉唑的测定提供参考方法。运用本实验建立的方法对实验所得的上百个河水样品进行测定,数据稳定可靠。

表 1 回收率及精密度($n=3$)

	加入量 $w/\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	回收率/ %	RSD/ %
添加水平 1	0.1	87.6	2.77
添加水平 2	0.05	96.5	2.30
添加水平 3	0.01	101.3	1.70

2.6 样品测定

对不同批次的水样品中的抑霉唑浓度进行测定,每个样品重复 3 次,结果见表 2。

3 结论

本文建立了河水中抑霉唑的 SPE-RP-HPLC 残留动态分析的方法。研究结果表明,该方法检出限低、重现性好、精密度高,并且操作简便、快速。是一种有效监测河水中抑霉唑含量的方法。

表 2 河水样品测定结果($n=3$)

编号	平均值 $w/\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	相对误差/%	编号	平均值 $w/\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	相对误差/%
10005	2.31	2.4	10102	1.34	0.9
10008	未检出	—	10109	1.58	2.1
10013	2.42	3.4	10112	未检出	—
10019	3.15	2.8	10123	2.45	1.8
10034	未检出	—	101346	未检出	—
10038	1.16	1.5	10145	未检出	—
10041	未检出	—	10152	2.34	1.7
10053	3.52	0.9	10167	2.51	2.3
10073	未检出	—	10178	2.78	1.4
10089	2.53	2.4	10188	1.89	1.5

参考文献:

- [1] 甘伯中, 张文利, 汪建旭, 等. 甘肃农业大学学报[J], 1998, 33(1): 79-82.
- [2] 杨涛, 艾尔肯·不拉音, 靳智, 等. 食品科技[J], 2008, (9): 245-247.
- [3] 付新梅, 张丽静, 封顺, 等. 分析化学[J], 2004, 32(3): 329-331.
- [4] 郭治安, 赵景婵, 王耀, 等. 分析化学[J], 2004, 32(2): 217-220.
- [5] Fernández M, Rodríguez R, Pieó Y, et al. J Chromatog A[J], 2001, 912(2): 301-310.
- [6] 潘守奇, 孙军, 董静, 等. 食品科学[J], 2008, 29(12): 516-518.
- [7] 应兴华, 徐霞, 陈铭学, 等. 分析测试学报[J], 2009, 28(4): 398-402.
- [8] 应兴华, 徐霞, 闵捷, 等. 分析试验室[J], 2009, 28(9): 59.
- [9] 赵其阳, 焦必宁, 王成秋, 等. 现代科学仪器[J], 2007, (1): 77-79.
- [10] Navickiene S, Ribeiro M L. J Braz Chem Soc[J], 2002, 13(5): 592-596.
- [11] Navickiene S, Ribeiro M L. J Sep Sci[J], 2001, 24: 470-472.
- [12] 武婷, 刘波, 李楠. 分析试验室[J], 2007, 26(9): 81-83.
- [13] 靳智, 杨涛, 李明, 等. 分析试验室[J], 2008, 27(S2): 73-75.
- [14] Navalón A, Prieto A, Araujo L. J Chromatog A[J], 2002, 975(2): 355-360.
- [15] Charlton A J, Jones A. J Chromatog A[J], 2007, 1141(1): 117-122.
- [16] 张国安, 王玉萍, 彭盘英, 等. 化学世界[J], 2010, 51(7): 404-407.