

中空纤维膜液相微萃取-GC-MS 测定水果和蔬菜中三唑类杀菌剂残留量

陈丽华 张丽君 张磊 张占恩^①

(苏州科技学院江苏省环境科学与工程重点实验室 江苏省苏州市滨河路 1701 号 215011)

摘 要 研究了一种直接快速测定水果和蔬菜等固体样品中 5 种三唑类杀菌剂残留量的新方法, 以气相色谱-质谱联用技术为基础, 利用中空纤维膜液相微萃取提取固体样品中目标物。通过实验确定最佳萃取条件为: 萃取剂为环己烷, 固体样品与水的比例为 1:3 (总质量为 10g), 超声震荡 5min 后以 500 r/min 的搅拌速率在 40℃ 下萃取 20min。萃取后取 1 μ L 有机溶剂直接进样进行气相色谱质谱分离检测。在此条件下, 水果和蔬菜中的三唑酮和多效唑的线性范围为 0.5—25mg/kg, 腈菌唑、烯唑醇和丙环唑的线性范围为 1—25mg/kg; 5 种目标物的检出限均低于 0.210mg/kg; 相对标准偏差在 4.7%—8.1% 之间。该方法可以用于水果和蔬菜等固体样品中三唑类杀菌剂的快速测定。

关键词 液相微萃取; 气相色谱-质谱; 水果; 蔬菜; 三唑类杀菌剂

中图分类号: O657.63

文献标识码: A

文章编号: 1004-8138(2011)01-0413-06

1 引言

中空纤维膜液相微萃取(HF-LPME)是在悬挂液滴液相微萃取的基础上发展起来的, 由于是在多孔的中空纤维腔中进行, 并不与样品溶液直接接触, 从而避免了悬滴萃取中溶剂易损失的缺点; 由于大分子、颗粒杂质等不能通过纤维壁孔, 因此 HF-LPME 还具有固相萃取、悬挂液滴液相微萃取不具备的突出的样品净化功能, 扩大了分析底物范围, 可用于复杂基质样品的直接分析^[1]。发展至今 HF-LPME 已经逐渐被用于各种物质分析的前处理, 它不仅被运用于生物^[2]、环境^[3]等样品的检测, 还在食品卫生等行业得到了成功的推广, 近年来倍受分析测试人员的关注。本实验利用 HF-LPME 特有的优点, 把 HF-LPME 用于固体样品的直接测定。

三唑类杀菌剂是 20 世纪 70 年代才问世的新内吸性杀菌剂类型, 具有高效、广谱、低毒、双效性, 所以三唑类杀菌剂的发展特别引人注目。但是国外发达国家已经明确限定这类农药在食品中的最高残留限量, 例如日本肯定列表中规定大豆和玉米中丙环唑最高残留限量(MRL)分别为 0.05、1.0mg/kg, 已唑醇分别为 0.05、0.02mg/kg, 腈菌唑分别为 0.05、0.02mg/kg, 三唑酮分别为 0.2、0.1mg/kg 等^[4], 因此研究一种准确、简单、快速、价廉、无二次污染且能同时测定水果和蔬菜中多种三唑类杀菌剂残留的检测方法很有现实意义。三唑类杀菌剂常用的测定方法有气相色谱法(GC)^[4,5]、气相色谱质谱法(GC-MS)^[6]及高效液相色谱法(HPLC)^[7,8]。水果、蔬菜等固体样品的预处理多用有机溶剂提取目标物, 氮吹定容后直接分析, 或萃取后经弗洛里柱净化, 定容后进样分析, 传统的索氏提取法也被广泛应用^[9]。但这些方法需要大量的有机溶剂, 对实验人员伤害较大, 且处理时间比较长, 步骤十分繁琐。HF-LPME 可以弥补上述缺点, 直接萃取水果和蔬菜等固体样品中

① 联系人, 电话: (0512) 68091496; 手机: (0) 13912606902; E-mail: zhanenzhang@126.com

作者简介: 陈丽华(1985—), 女, 河南省周口市人, 在读硕士研究生, 主要从事环境监测工作。

收稿日期: 2010-03-23; 接受日期: 2010-05-06

的三唑类杀菌剂。Hian Kee Lee^[10,11]等人曾用 HF- μ PME 直接测定土壤固体样品中的三唑类除草剂等,取得了较好的萃取效果。而把 HF- μ PME 用于直接测定水果和蔬菜中的三唑类杀菌剂的研究还未见报道。本实验用 HF- μ PME-GC-MS 直接快速测定水果(苹果、橘子、香蕉)和蔬菜(大白菜、鸡毛菜)中的 5 种三唑类杀菌剂,得到了很好的效果,为该方法的研究提供了原始的参考依据。

2 实验部分

2.1 仪器与试剂

HP6890-5973MSD 气相色谱-质谱仪(美国 Agilent 公司); HP-5MS 石英毛细管色谱柱(30m $\times$ 0.125mm, 0.125 μ m 涂层, 美国 Agilent 公司); 10 μ L 微量进样器(美国 Agilent 公司); SH23-2 恒温磁力搅拌器(上海梅颖浦仪器仪表公司); OBY-2 可调高速匀浆机(苏州欧倍科学仪器有限公司); KQ-500KDB 超声波清洗仪(江苏昆山超声波有限公司); Milli-Q Academic 纯水器(美国 Millipore 公司); 聚丙烯中空纤维膜(杭州浚华净水设备公司), 内径为 550 μ m, 壁厚为 50 μ m, 纤维孔隙尺寸为 0.02—0.2 μ m。

色谱纯丙酮, 环己烷, 正己烷, 正辛烷, 苯, 甲苯; 其余所需试剂均为分析纯。实验用水为使用 Milli-Q Academic 纯水器制得的去离子和去有机物纯水。

5 种三唑类杀菌剂标样(上海市农药研究所): 三唑酮(Triadimefon), 多效唑(Pacllobutrazol), 腈菌唑(Mylobutanil), 烯唑醇(Diniconazole), 丙环唑(Propiconazole, 由一对立体异构体丙环唑 A 和丙环唑 B 组成)。使用丙酮配制含 5 种物质 1000mg/L 的标准储备液, 冷藏于 4 $^{\circ}$ C 冰箱中储存, 临用时用丙酮稀释至需要的浓度。

2.2 水果和蔬菜样品的预处理

苹果去核, 切碎备用; 橘子去皮和子; 香蕉去皮, 切碎; 大白菜和鸡毛菜去根, 切碎; 取 200g 以上样品, 在高速匀浆机中匀浆 2min, 直至样品形成颗粒细小的浆状。处理好的样品放入 4 $^{\circ}$ C 的冰箱中保存备用。

加标实验中, 取处理好的上述浆状固体样品 30g, 向其中加入丙酮直到把样品全部浸没为止。取 5 种三唑类杀菌剂混合标准溶液 150 μ L 注入到固体浆中, 超声震荡 30s, 以便目标物被固体样品充分吸附, 搅拌均匀直到丙酮挥发至干, 把样品放入通风橱里风干平衡一昼夜, 即得到加标浓度为 5mg/kg 的标准样品。处理好的样品放入 4 $^{\circ}$ C 的冰箱中保存以备分析测定。

萃取时在 12mL 的样品瓶中按 3:1 的水/固体样比称取 2.5g 备用浆状样品即可。

2.3 中空纤维膜液相微萃取

将中空纤维膜在丙酮中超声清洗 10min 以便去除污染物, 风干后切成长度为 2cm 的小段备用; 微量进样器先抽入 3 μ L 萃取剂, 再抽入等体积的水; 将微量进样器针尖插入中空纤维膜的一端然后浸入萃取剂中约 10s, 以便有机溶剂充满膜壁上的微孔; 此时, 疏水性的中空纤维膜膜管内也会充满有机溶剂, 然后用微量进样器内的水冲洗膜管, 移除其中的有机溶剂; 取出中空纤维膜浸入样品中, 小心地将进样器中的有机溶剂注入到中空纤维膜中; 打开磁力搅拌器开关开始萃取。待萃取完成后, 从中空纤维膜中抽取 1 μ L 萃取剂注入气相色谱中进行分析。

2.4 色谱及质谱条件

色谱条件: 载气(He)流速 0.15mL/min; 分流进样, 分流比为 10:1; 进样口温度 230 $^{\circ}$ C; 柱温为程序升温:

初始温度 80 $^{\circ}$ C (2min) $\xrightarrow{20^{\circ}\text{C}/\text{min}}$ 170 $^{\circ}$ C $\xrightarrow{15^{\circ}\text{C}/\text{min}}$ 260 $^{\circ}$ C (6min)

质谱条件: 质谱采用 EI 离子源(电子能量 69.9eV), 离子源温度 230℃, 四极杆 150℃。采用全扫描方式进行定性测定, 选择离子方式进行定量测定。

3 结果与讨论

3.1 有机萃取剂的选择

在 HF-LPME 中选择一个合适的有机萃取溶剂可以大大提高对目标物的萃取效率。萃取溶剂的选取需要重点考察以下几个方面: 有机溶剂必须能浸没在纤维膜孔壁上且稳定, 不容易挥发, 不溶于水, 与目标物有相似的极性, 亲和力好。本实验选用了正己烷、环己烷、正辛烷、苯和甲苯 5 种有机溶剂萃取目标物, 实验结果如图 1 所示, 环己烷的萃取效果明显好于正己烷和正辛烷, 萃取过程苯、甲苯更容易发生溶剂损失, 不能满足所需进样体积。所以本实验选取环己烷做萃取溶剂。

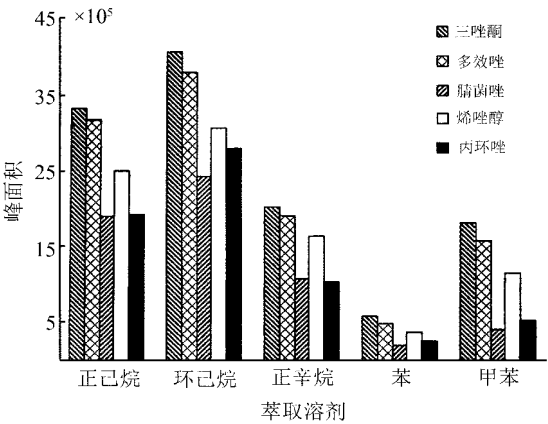


图 1 萃取溶剂对萃取效率的影响

3.2 超声震荡时间对萃取效果的影响

低频率超声震荡可以使固体样品颗粒变小, 有利于目标物从固体样品解析到水中, 缩短萃取时间。超声时间越长, 固体颗粒越小, 目标物越容易从固体样品中解析出来; 但随着超声时间的增加, 固体粒径越来越小, 比表面积增大, 对目标物的吸附能力加强, 解析到水中的目标物减少, 萃取量降低。同时, 固体颗粒越细小, 萃取过程中, 需要更高的搅拌速度来使样品混合均匀, 容易引起萃取溶剂的损失。为了取得更好的萃取效果, 本实验把超声震荡与 HF-LPME 结合, 研究了超声时间分别为 1、3、5、10、15min 时对萃取效率的影响。从实验结果可看出 5min 前随震荡时间的增加 5 种目标物的峰面积均逐渐增大, 5min 之后峰面积略有减少但变化不大。为减少分析时间, 并达到较好的分析效果, 选择 5min 作为超声震荡时间。

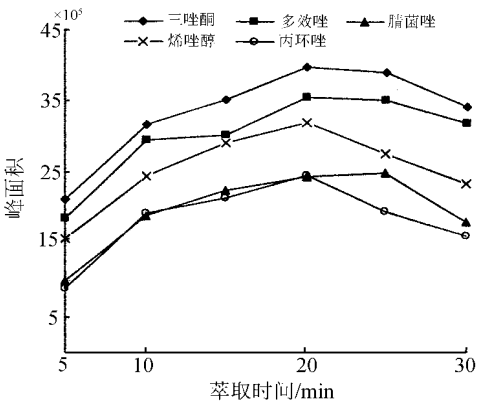


图 2 萃取时间对萃取效率的影响

3.3 水与固体样品的比例

水/固体样品比小, 样品不容易搅拌均匀, 影响传质过程, 若提高搅拌速度又容易引起萃取溶剂的损失; 水/样品比过大, 混合物中固体样品的含量降低, 传质到水中的目标物质减少, 萃取出的目标物也较少, 所以选取最佳水/样品比尤为重要。本实验在水与固体样品总质量为 10g 的情况下, 考察了水/固体样品比分别为 2:1, 3:1, 4:1, 5:1, 7:1 时对萃取效果的影响。实验结果表明: 水/固体样品比为 3:1 时各个目标物的萃取效果都达到最大, 选择 3:1 为最佳的水与固体样品比。

3.4 最佳萃取时间

萃取是目标物从样品迁移到吸收液的动态过程, 目标物迁移到吸收液中达到分配平衡需要一定的时间, 萃取时间越长, 越有利于目标物进入吸收液, 但过长的萃取时间, 容易引起萃取溶剂损

失, 分析结果稳定性变差。在萃取时间分别为 5、10、15、20、25、30 min 时, 研究了萃取时间对萃取效率的影响。实验结果如图 2 所示: 前 20 min 随萃取时间的增大 5 种目标物的峰面积逐渐增加, 萃取时间为 20 min 时 4 种目标物的峰面积达到最大值, 20 min 之后, 目标物峰面积逐渐减少, 腈菌唑峰面积在 25 min 时达到最大值。为了取得好的萃取效果, 所以确定 20 min 为萃取平衡时间。

3.5 搅拌速率对萃取效果的影响

搅动水与固体样品的浆状物可以改善传质过程, 加快目标物进入萃取溶剂的速度, 提高萃取效率, 但搅动过快会加速有机溶剂的溶解, 增大实验误差。本实验在 400—700 r/min 范围内改变搅拌速度, 考察了搅拌速率对萃取效果的影响。结果如图 3 所示。本实验选取 500 r/min 作为最佳搅拌速度。

3.6 最佳萃取温度的选择

温度对液相微萃取有两方面的影响: 升温, 分析物向有机相的扩散系数增大, 扩散速度随之增大, 同时加强了对流过程, 有利于缩短达到平衡的时间; 但是, 升温会使分析物的分配系数减小, 减少其在溶剂中的萃取量, 且高温有机溶剂易挥发。所以要同时考虑萃取时间和萃取效果, 寻求最佳萃取温度。本实验对比了萃取温度为 20、25、30、35、40、45℃ 时的萃取效果, 由实验数据分析可知在 20—40℃, 5 种物质的峰面积都逐渐增加, 40℃ 5 种物质的峰面积均达到最大值, 所以本实验选取 40℃ 作为最佳萃取温度。

3.7 方法的线性范围、检出限和精密度

取适量 1000 mg/L 标准储备液按照 2.2 所示步骤准确配制浓度分别为 0.5、1、5、10、25、50 mg/kg 的标准苹果样品, 按照 2.3 所示步骤萃取, 利用本实验选定的最佳萃取条件, 测定苹果中 5 种物质的校准曲线线性范围分别在 0.5—25 mg/kg 和 1—25 mg/kg 之间, 检出限在 0.055—0.210 mg/kg 之间。同时为考察方法的重现性, 连续测定浓度为 10 mg/kg 的各标准样品 6 次, 测定的相对标准偏差 (RSD) 为 5.1%—7.4%, 具体数据如表 1 所示。

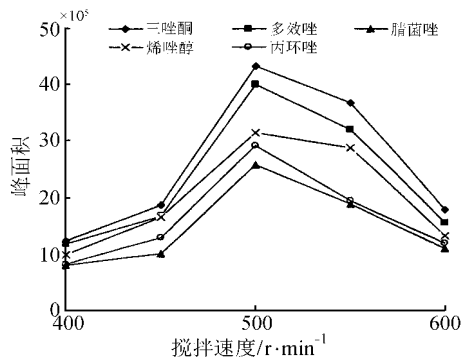


图 3 搅拌速度对萃取效果的影响

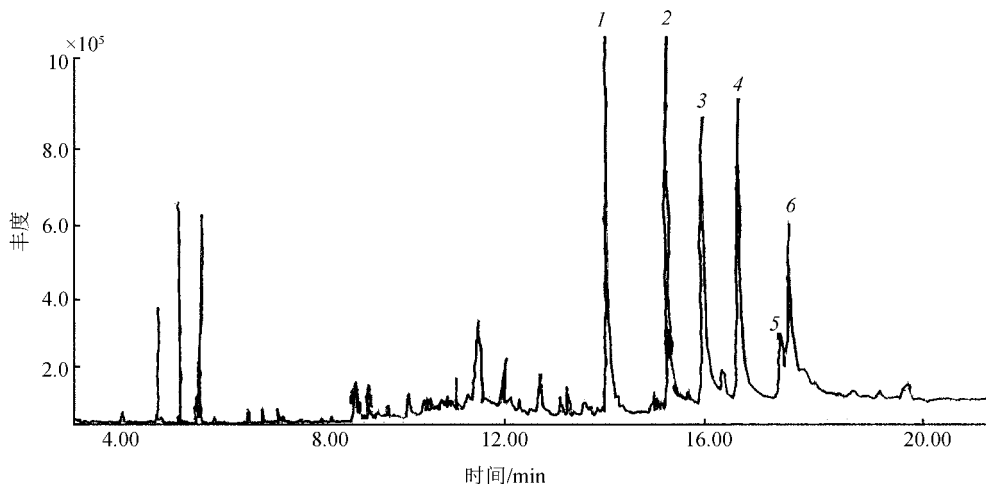


图 4 香蕉样品中 5 种三唑类杀菌剂加标色谱图 (全扫描方式; 加标浓度: 10 mg/kg)

1——三唑酮; 2——多效唑; 3——腈菌唑; 4——烯唑醇; 5, 6——丙环唑。

表 1 苹果样品中 5 种目标物的萃取结果

分析物	线性范围 (mg/ kg)	相关系数	检出限 (mg/ kg)	相对标准偏差 (%)
三唑酮	0. 5—25	0. 9994	0. 055	6. 8
多效唑	0. 5—25	0. 9987	0. 087	5. 1
腈菌唑	1—25	0. 9991	0. 062	5. 9
烯唑醇	1—25	0. 9976	0. 170	7. 1
丙环唑	1—25	0. 9993	0. 210	7. 4

3. 8 实际样品的测定

应用本文建立的方法测定了香蕉、橘子、大白菜、鸡毛菜样品, 4 种样品加标实验的检出限在 0. 05—0. 1mg/kg 之间, 相对标准偏差为 4. 7%—8. 1%。实际样品中均未检出此 5 种三唑类杀菌剂。图 4 为香蕉样品中 5 种三唑类杀菌剂的加标色谱图。实验结果表明该方法简单、快速、成本低廉, 可以用于水果和蔬菜等固体样品中三唑类杀菌剂的快速检测。

参考文献

[1] 罗明标, 刘维, 李伯平等. 多孔中空纤维液相微萃取技术的研究进展[J]. 分析化学, 2007, **35**(7): 1071—1077.

[2] 黄星, 马果花, 王芳琳等. 液相微萃取技术及其在毒物分析中的应用[J]. 分析测试学报, 2008, **27**(3): 333—338.

[3] 李冠华, 张占恩. 中空纤维液相微萃取-气相色谱质谱法测定水中的百菌清[J]. 分析试验室, 2008, **27**(增刊): 22—25.

[4] 沈伟健, 桂茜雯, 余可 等. 气相色谱-负化学离子源质谱测定大豆和玉米中 12 种三唑类杀菌剂的残留量[J]. 色谱, 2009, **27**(1): 91—95.

[5] 吴俐, 陈铭学, 牟仁祥等. 植物源食品中 6 种三唑类杀菌剂残留量的气相色谱法测定[J]. 分析测试学报, 2009, **28**(7): 846—848.

[6] 游明华, 孙广大, 陈猛等. 环境水样中 9 种三唑类农药的固相萃取-气相色谱-质谱分析[J]. 色谱, 2008, **26**(6): 704—708.

[7] 赵永刚, 章勇, 张蓓蓓等. 固相萃取/ 高效液相色谱法测定水体中的戊唑醇[J]. 农药, 2008, **47**(4): 271—272.

[8] 慕卫, 刘峰, 孙作洋等. 戊唑醇、丙环唑和三唑酮的 GC 和 HPLC 分析方法[J]. 农药科学与管理, 2005, **26**(7): 1—3.

[9] 张乔. 农药污染物残留分析方法汇编[M]. 北京: 化学工业出版社, 1990. 30—31.

[10] Shen G, Lee H K. Hollow Fiber-Protected Liquid-Phase Microextraction of Triazine Herbicides[J]. *Anal. Chem.*, 2002, **74**(3): 648—654.

[11] Hou L, Lee H K. Determination of Pesticides in Soil by Liquid-Phase Microextraction and Gas Chromatography-Mass Spectrometry[J]. *J. Chromatogr. A*, 2004, **1038**(1—2): 37—42.

Analysis of Triazole Fungicides Residues in Fruits and Vegetables
by Hollow Fiber-Protected Liquid Phase Microextraction-Gas
Chromatography-Mass Spectrometry

CHEN Li-Hua ZHANG Li-Jun ZHANG Lei ZHANG Zhan-En

(Suzhou University of Science and Technology, Jiangsu Province Key Laboratory of Environmental Science and Engineering,
Suzhou, Jiangsu 215011, P. R. China)

Abstract A new method for the rapid and direct measurement of triazole fungicides residue in fruits and vegetables was developed based on gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) with hollow fiber protected liquid phase microextraction (HF-LPME) for the extraction of triazole

fungicides in fruits and vegetables. The optimum extraction conditions were investigated: cyclohexane was selected as extract agent, solid samples/water ratio was 1 : 3 (with a total quality 10g), solid samples were extracted at 40°C for 20min with 500 r/min stirring rates after ultrasonic 5min. After extraction, 1 μ L organic solvent was injected into GC-MS for separation and detection. Under the optimum conditions, linear range was 0.5—25mg/kg for triadimenfon and paclobutrazol, and 1—25mg/kg for myclobutanil, diniconazole and propiconazole; the limits of detection (LOD) were lower than 0.210mg/kg; the relative standard deviation(RSD) was in the range of 4.7%—8.1%. The method is fast and accurate for the determination of trace amounts of triazole fungicides in fruits and vegetables.

Key words Liquid Phase Microextraction; Gas Chromatography-Mass Spectrometry; Fruits; Vegetables; Triazole Fungicides

本期论文发表周期一览表

(出版日期: 2011 年 1 月 25 日)

论文作者	论文接受日期	论文发表周期	论文作者	论文接受日期	论文发表周期
徐国栋等	2010-05-12	8 个月又 13 天	郑京平	2010-05-31	7 个月又 24 天
赵 静等	2010-05-12	8 个月又 13 天	刘慧丽等	2010-12-06	1 个月又 19 天
赵学辉等	2010-04-16	9 个月又 9 天	姬 勇等	2010-11-06	2 个月又 19 天
张其平等	2010-05-16	8 个月又 9 天	聂 绩等	2010-05-31	7 个月又 24 天
张世菊等	2010-05-16	8 个月又 9 天	刘小莉等	2010-06-01	7 个月又 24 天
王 晟等	2010-05-16	8 个月又 9 天	庞艳华等	2010-06-01	7 个月又 24 天
王红艳等	2010-05-17	8 个月又 8 天	沈 静等	2010-06-02	7 个月又 23 天
刘 美等	2010-05-20	8 个月又 5 天	姜晶晶等	2010-06-02	7 个月又 23 天
刘丽娟等	2010-05-26	7 个月又 29 天	刘 霞等	2010-06-03	7 个月又 22 天
张传珂等	2010-05-26	7 个月又 29 天	郭 颖等	2010-06-04	7 个月又 21 天
胡军福	2010-04-08	9 个月又 17 天	李 清等	2010-06-09	7 个月又 16 天
张雨青等	2010-05-05	8 个月又 20 天	李 凤等	2010-06-09	7 个月又 16 天
郭妙妙等	2010-05-10	8 个月又 15 天	王瑞勇等	2010-06-09	7 个月又 16 天
吴 婷等	2010-05-10	8 个月又 15 天	吕雯雯等	2010-07-07	6 个月又 18 天
李国旺等	2010-05-12	8 个月又 13 天	刘天平等	2010-07-09	6 个月又 16 天
张 旭等	2010-05-12	8 个月又 13 天	蒙爱萍等	2010-07-14	6 个月又 11 天
张 辉等	2010-05-12	8 个月又 13 天	丛景香等	2010-07-14	6 个月又 11 天
蔡 燕等	2010-05-12	8 个月又 13 天	杨晓婧等	2010-07-15	6 个月又 10 天
高华娜等	2010-05-13	8 个月又 12 天	郝会颖等	2010-12-22	1 个月又 3 天
邓岩辉等	2010-05-13	8 个月又 12 天	马国财等	2010-07-15	6 个月又 10 天
翟秋阁等	2010-05-16	8 个月又 9 天	尹爱萍等	2010-07-16	6 个月又 9 天
杨 微等	2010-05-16	8 个月又 9 天	鹿泽启等	2010-03-20	10 个月又 5 天
穆卫东等	2010-05-17	8 个月又 8 天	王记莲	2010-02-22	11 个月又 3 天
金 茜等	2010-05-17	8 个月又 8 天	陈先良等	2010-05-06	8 个月又 21 天
袁明华等	2010-05-18	8 个月又 7 天	开小明	2010-05-26	7 个月又 29 天
黄志勤等	2010-05-20	8 个月又 5 天	陈 韵	2010-05-10	8 个月又 15 天
颜振敏等	2010-05-20	8 个月又 5 天	阚木铖	2010-12-23	1 个月又 2 天
李 春等	2010-05-20	8 个月又 5 天	闻 环等	2010-10-20	3 个月又 5 天
尹计秋等	2010-05-20	8 个月又 5 天	宣春生等	2010-08-11	5 个月又 14 天
包玉敏等	2010-05-20	8 个月又 5 天	闫祝炜等	2010-08-11	5 个月又 14 天
李向红等	2010-05-21	8 个月又 4 天	吴 庆等	2010-08-21	5 个月又 4 天
高锦红等	2010-05-22	8 个月又 3 天	陈 祥等	2010-08-24	5 个月又 1 天
罗娟娟等	2010-05-24	8 个月又 1 天	李小明等	2010-09-02	4 个月又 23 天
张红芹等	2010-05-24	8 个月又 1 天	何建川等	2010-09-04	4 个月又 21 天
姬生国等	2010-05-12	8 个月又 13 天	李晋国等	2010-09-08	4 个月又 17 天
张唐伟等	2010-05-24	8 个月又 1 天	宋健玲等	2010-09-07	4 个月又 18 天
史慎德等	2010-05-22	8 个月又 3 天	姚 军等	2010-09-10	4 个月又 15 天
杨晓帆等	2010-05-24	8 个月又 1 天	魏胜华等	2010-09-13	4 个月又 12 天
曹文忠等	2010-05-26	7 个月又 29 天	杨冬花等	2010-09-17	4 个月又 8 天
田志茗等	2010-05-26	7 个月又 29 天	杨冬芝等	2010-10-13	3 个月又 12 天
李宏岩等	2010-05-26	7 个月又 29 天	钟 鸣等	2010-05-12	8 个月又 13 天
王 海	2010-05-26	7 个月又 29 天	贺 静等	2010-09-17	4 个月又 8 天
韩采芹	2010-05-26	7 个月又 29 天	刘小珍等	2010-09-28	3 个月又 27 天
刘 华等	2010-05-26	7 个月又 29 天	郭武学等	2010-09-29	3 个月又 26 天
周 围等	2010-05-26	7 个月又 29 天	李晋国等	2010-09-08	4 个月又 17 天
邹 卫等	2010-05-31	7 个月又 24 天	江 波等	2010-10-16	3 个月又 9 天
石 杰等	2010-05-31	7 个月又 24 天	张红影等	2010-10-18	3 个月又 7 天
彭彩华等	2010-05-31	7 个月又 24 天	张 博等	2010-10-26	2 个月又 29 天
包玉敏等	2010-05-31	7 个月又 24 天	高 媛	2010-12-15	1 个月又 10 天
莫 利等	2010-05-31	7 个月又 24 天	陈丽华等	2010-05-08	8 个月又 19 天