

固相萃取-气相色谱-质谱联用测定葱属蔬菜中二甲嘧菌胺和吡氟禾草灵残留量

苏建峰^{a*} 钟茂生^b 张光军^a 陈竞秀^a 林立峰^c 刘建军^{a,d}

(^a福建华日食品安全检测有限公司 福州 350015; ^b宁德出入境检验检疫局 宁德;

^c中国科学院城市环境研究所 厦门; ^d中国检验认证集团福建有限公司 福州)

摘要 在固相萃取基础上通过极性区间排列净化前处理,建立了固相萃取-气相色谱-质谱法检测青葱、大葱、洋葱中的二甲嘧菌胺与吡氟禾草灵残留的分析方法。样品用乙腈提取,加入氯化钠继续均质,离心分层后取部分乙腈层过 Envi-18 柱和 Florisil 柱净化后上机测试。采用选择离子扫描方式,外标法定量。分析方法简便、快速。通过优化前处理和上机条件,在最优条件下进行测试,二甲嘧菌胺与吡氟禾草灵的定量下限($S/N=10$)均小于 0.01 mg/kg,在加标水平 0.01 ~ 0.2 mg/kg 范围内,回收率分别为 81.4% ~ 94.6%、107% ~ 129%,相对标准偏差分别为 3.3% ~ 11%、4.0% ~ 9.7%。

关键词 固相萃取,气相色谱-质谱法,样品前处理,二甲嘧菌胺,吡氟禾草灵,葱

中图分类号:O657

文献标识码:A

文章编号:1000-0518(2010)05-0590-04

DOI:10.3724/SP.J.1095.2010.90529

二甲嘧菌胺(pyrimethanil),为新型杀菌剂,属苯胺基嘧啶类,为当前防治灰霉病活性最高的杀菌剂。吡氟禾草灵(fluazifop-butyl),又名稳杀得,是内吸传导型茎叶处理除草剂,它们是葱属蔬菜(青葱、大葱、洋葱等)种植过程中的常用农药。葱是一类较为特殊的蔬菜,含有大量的烷基硫代半胱氨酸、亚砷类化合物等及其活性酶。在完整的细胞内,酶与底物是分隔存在的。细胞受损伤后,酶会作用于底物,产生大量硫基干扰物质,这些硫化物与有机磷和有机氯等农药性质极其相似,不容易除去而干扰农药残留测定结果。固相萃取(SPE)技术在近年来得到迅速的发展^[1],常规 SPE 技术用于普通样品检测效果良好^[2,3],但对这一类特殊样品的净化效果不理想^[4~6]。文献^[4~8]采用微波或磷酸处理,钝化样品中的活性酶,降低干扰。但微波或磷酸处理对实验条件要求苛刻,不容易实现标准化。有一些样品如混合菜或葱末,接收样品时已经是粉末,没机会进行微波或磷酸处理,直接导致无法测试。目前,食品检测相关标准(GB/T 5009.142-2003)主要针对简单蔬菜、水果,不适用于葱属蔬菜这类复杂样品。本文在 SPE 方法的基础上进行了极性区间排列净化研究。将其用于青葱、大葱、洋葱的前处理,净化效果良好。另外,通过气质联用选择离子扫描进一步降低干扰,对二甲嘧菌胺和吡氟禾草灵进行测定,取得了满意的结果。实验优化了前处理条件和仪器测定参数,并对各影响因素进行了进一步的探讨。

1 实验部分

1.1 仪器和试剂

7890A-5975C 型气相色谱-质谱联用仪(美国 Agilent),配 7683 自动进样器, EI 源;色谱柱为 DB-5MS 毛细管柱, 30 m × 0.25 mm × 0.25 μm; T-18basic 型均质器(德国 IKA); 2-6P 型 4000 r/min 低速离心机(德国 Sigma); 4003 型旋转蒸发仪(德国 Heidolph); DC-12 型氮吹仪(上海安谱); 二甲嘧菌胺、吡氟禾草灵标准品(德国 Dr. Ehrenstorfer); Envi-18 固相萃取小柱 2 g, 柱体积 12 mL, Florisil 固相萃取小柱 1 g, 柱体积 6 mL(美国 Supelco); 定容用正己烷为色谱纯(美国 Merck), 其它试剂均为分析纯; 实验用水为三次去离子水。

1.2 实验方法

1.2.1 样品处理 称取10.00 g搅碎样品至50 mL离心管中,加入乙腈20 mL,用均质机15000 r/min均质30 s,加入3 g NaCl,继续均质30 s,旋上盖子充分振荡,4000 r/min离心10 min,吸取乙腈层10 mL,待净化。

将Envi-18柱置于鸡心瓶上,柱上方装入1 cm高的无水硫酸钠,用10 mL乙腈活化,弃去乙腈溶液,将提取液过柱,再加入15 mL乙腈洗脱,自然流速,收集洗脱液旋转蒸发至干,用 $V(\text{乙酸乙酯}):V(\text{正己烷})=1:19$ 混合溶剂2.5 mL $\times 2$ 溶解鸡心瓶中的目标物,过经5 mL $V(\text{乙酸乙酯}):V(\text{正己烷})=1:19$ 混合溶剂活化过的Florisil柱,并继续用该混合溶剂淋洗,共收集10 mL,40 $^{\circ}\text{C}$ 下 N_2 气吹干,正己烷定容至1 mL,待测。

1.2.2 色谱质谱条件 载气为He气(纯度99.999%),恒流模式,流速为1.0 mL/min,进样口温度220 $^{\circ}\text{C}$,进样量2 μL ,不分流进样。柱起始温度60 $^{\circ}\text{C}$,保持1 min。以15 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升温至300 $^{\circ}\text{C}$,保持5 min。色谱-质谱接口温度280 $^{\circ}\text{C}$,离子源温度230 $^{\circ}\text{C}$,四极杆温度150 $^{\circ}\text{C}$,离子化方式EI,电子能量70 eV,倍增器电压在自动调谐后加400 V。全扫描质荷比 m/z 为50~400。选择扫描监测离子二甲嘧菌胺定量离子为 m/z 198,定性离子 m/z 199,200。吡氟禾草灵定量离子 m/z 383,定性离子 m/z 282,254。驻留时间60 ms。

2 结果与讨论

2.1 样品前处理条件的选择

2.1.1 提取 二甲嘧菌胺与吡氟禾草灵在乙腈中均有较高的溶解度,而且乙腈与净化时的SPE柱相匹配,无需浓缩可直接过柱,本文采用乙腈提取。均质后加入NaCl,使水相和有机相分离,以除去水和水溶性杂质。

2.1.2 净化 青葱、大葱、洋葱提取液中含有大量硫基干扰物质,同时还有色素等其它杂质,目前还没有好的办法能够彻底地将它们与农药分离。本文前处理方法的净化思路为不单独设置除硫化物的步骤和不除色素等其它杂质,而是重点关注目标化合物的极性范围,设计实验条件使产生某一极性区间,这一极性区间范围与目标化合物的极性范围相当或略宽,则目标化合物落在该区间内,其它杂质因不满足该区间极性条件得以除去。这一区间条件通过2个净化步骤实现:(1)选用Envi-18柱,Envi-18柱的硅胶上接有十八烷基,有较高的相覆盖率和碳含量,对非极性物质有较高的容量^[9],配合乙腈洗脱,可以除去大部分弱极性的杂质;(2)选用Florisil柱,Florisil柱是强极性镁化硅胶柱,对极性化合物有较强的吸附,配合 $V(\text{乙酸乙酯}):V(\text{正己烷})=1:19$ 混合溶剂洗脱,可以除去大部分极性杂质。

图1为净化步骤(2)的具体优化过程,该步骤用于除极性杂质,使用正相柱配合适当溶剂由强至弱进行筛选:当使用 $V(\text{丙酮}):V(\text{正己烷})=1:9$ 混合溶剂洗脱时,由于溶剂极性相对较强,2个目标物在5 mL内就基本全部洗脱,但较多杂质同时也被洗脱,净化效果较差;使用 $V(\text{乙酸乙酯}):V(\text{正己烷})=1:19$ 混合溶剂洗脱时,溶剂极性较弱,净化效果好,目标物在10 mL内基本完全回收;继续降低溶剂极性,使用 $V(\text{乙酸乙酯}):V(\text{正己烷})=1:49$ 混合溶剂洗脱时,洗脱体积达到25 mL时二甲嘧菌胺还有损失,且操作时间较长,所以选用 $V(\text{乙酸乙酯}):V(\text{正己烷})=1:19$ 混合溶剂10 mL洗脱目标物。

2.2 结果分析

对二甲嘧菌胺与吡氟禾草灵的标准溶液进行全扫描,挑选特异性强、丰度大、质量数高的3个离子进行SIM扫描。二甲嘧菌胺:定量离子 m/z 198,定性离子 m/z 199,200;吡氟禾草灵:定量离子 m/z 383,定性离子 m/z 282,254。青葱样品加标回收实验结果见图2。图中可见,样品经净化后,总离子流色谱图中杂峰较少,干扰物质得到有效的去除。二甲嘧菌胺的总离子流图色谱峰前有1杂质峰,很靠近目标峰,经提取定量离子 m/z 198后发现,该杂质峰消失,不影响定量;吡氟禾草灵的3个监测离子在其保留时间附近均无杂质峰,信噪比很高。

2.3 方法定量下限、回收率、精密度

用本文方法对青葱、大葱、洋葱加标样品进行测定,3个加标水平,每个加标水平重复6次,以信噪

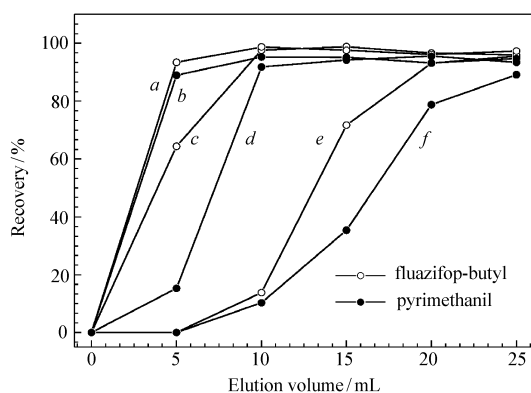


图 1 吡氟禾草灵与二甲嘧菌胺在 Florisil 柱上的洗脱曲线

Fig. 1 Elution curves of fluazifop-butyl and pyrimethanil on Florisil column

Elution solvent: a, b. $V(\text{acetone}):V(n\text{-hexane}) = 1:9$;

c, d. $V(\text{ethyl acetate}):V(n\text{-hexane}) = 1:19$;

e, f. $V(\text{ethyl acetate}):V(n\text{-hexane}) = 1:49$

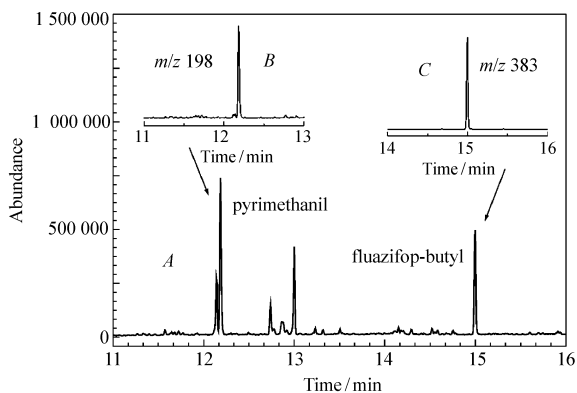


图 2 加标水平为 0.05 mg/kg 青葱样品选择扫描总离子流色谱图(A)和定量离子提取离子流色谱图(B. m/z 198; C. m/z 383)

Fig. 2 TIC chromatogram of green onion spiked with 0.05 mg/kg mixed standards(A) in SIM mode extraction chromatograms of quantitative ions(B. m/z 198; C. m/z 383)

比等于 10 确定 2 个项目的定量下限均小于 0.01 mg/kg,方法回收率、精密度结果见表 1。表 1 结果表明,二甲嘧菌胺的回收率为 81.4% ~ 94.6%,结果理想;吡氟禾草灵的回收率为 107% ~ 129%,略偏高。采用基质匹配标准溶液定量时发现,其实际回收率在 89.0% ~ 101%,所以其偏高部分来源于基质增强效应^[10,11]。加标水平较高的样品受基质效应影响较小,由于偏高不多,处在可接受范围内,而且采用基质匹配标准溶液定量大大增加了工作量,所以本文仍采用常规标准溶液外标法定量,结果较优,速度快,可以满足进出口监控中高通量样品的检测需求。

表 1 方法回收率、精密度 ($n=6$)

Table 1 Recovery and RSD of the method ($n=6$)

Pesticide	Added/ ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)	Found/($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)		Recovery/%		RSD/%	
		Pyrimethanil	Fluazifop-butyl	Pyrimethanil	Fluazifop-butyl	Pyrimethanil	Fluazifop-butyl
Green onion	0.01	0.008 23	0.012 9	82.3	129	11	9.7
	0.05	0.044 2	0.055 3	88.4	111	8.2	5.5
	0.20	0.169	0.221	84.5	110	3.3	5.1
Scallion	0.01	0.009 08	0.012 6	90.8	126	7.2	8.4
	0.05	0.045 0	0.054 3	90.0	109	4.5	6.4
	0.20	0.177	0.214	88.5	107	5.7	4.0
Onion	0.01	0.008 14	0.011 5	81.4	115	7.4	6.3
	0.05	0.047 3	0.054 1	94.6	108	5.1	6.0
	0.20	0.189	0.219	94.5	110	6.1	4.3

参 考 文 献

- 1 FU Ruo-Nong(傅若农). *Chinese J Anal Lab*(分析实验室)[J], 2007, **26**(2):100
- 2 ZHANG Guang-Ju(张广举), LI Guang-Hao(李光浩), HAI Hua(海华). *Chinese J Appl Chem*(应用化学)[J], 2008, **25**(8):957
- 3 SU Jian-Feng(苏建峰), LIN Gu-Yuan(林谷园), CHEN Jin-Xing(陈劲星), CHEN Jing(陈晶), ZHANG Jin-Hu(张金虎), HU Chao-Yang(胡朝阳). *Chinese J Anal Chem*(分析化学)[J], 2008, **36**(4):545
- 4 JI Shu-Juan(纪淑娟), LIU Chang-Jiang(刘长江), SATO Motoaki(佐藤元昭), LI Dong-Xiu(李冬秀), LI Jun-Qi(李俊奇). *PTCA Part B: Chem Anal*(理化检验-化学分册)[J], 2006, **42**(11):914
- 5 Zhang H, Chen Z L, Yang G S, Wang W Z, Li X Q, Li R J, Wu Y J. *Food Chem*[J], 2008, **108**(1):322
- 6 WANG Jian-Hua(王建华), ZHANG Yi-Bing(张艺兵), TANG Zhi-Xu(汤志旭), LIU Xin-Tong(刘心同), LI Jun-Qi

- (李俊奇). *J Instrum Anal*(分析测试学报)[J],2005,**24**(1):100
- 7 JIANG Jun(姜俊),LI An(李安),LI Hai-Yan(李海燕),TONG Ke-Xing(佟克兴),ZHOU Li-Li(周丽丽),ZHOU Hui-Min(周慧敏),ZHAO Tong(赵彤). *Chinese J Chromatogr*(色谱)[J],2007,**25**(3):395
- 8 Eiji U,Harumi O,Isao S,Hiroshi M. *J AOAC Int*[J],2003,**86**(6):1241
- 9 SU Jian-Feng(苏建峰),LIN Gu-Yuan(林谷园),LIAN Wen-Hao(连文浩),ZHANG Jin-Hu(张金虎),CHEN Dong-Hua(陈冬花). *Chinese J Chromatogr*(色谱)[J],2008,**26**(3):292
- 10 HUANG Bao-Yong(黄宝勇),OUYANG Xi-Hui(欧阳喜辉),PAN Can-Ping(潘灿平). *Chinese J Pestic Sci*(农药学报)[J],2005,**7**(4):299
- 11 Matuszewski B K,Constanzer M L,Chavez-Eng C M. *Anal Chem*[J],2003,**75**(13):3019

Determination of Residual Pyrimethanil and Fluazifop-butyl in Onion by Gas Chromatography-mass Spectrometry

SU Jian-Feng^{a*}, ZHONG Mao-Sheng^b, ZHANG Guang-Jun^a,
CHEN Jin-Xiu^a, LIN Li-Feng^c, LIU Jian-Jun^{a,d}

^a*Fujian Fairreach Food Safety Testing Co., Ltd, Fuzhou 350015;*

^b*Ningde Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Ningde;*

^c*Institute of Urban Environment, Chinese Academy of Sciences, Xiamen;*

^d*China Certification & Inspection Group Fujian Co., Ltd., Fuzhou)*

Abstract A pretreatment method was developed based on solid phase extraction (SPE) and applied to determine the residual pyrimethanil and fluazifop-butyl in green onion, scallion and onion by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). The samples were extracted from homogenized tissue with acetonitrile, separated with liquid-liquid partition. The supernatants were purified by SPE (Envi-18 and Florisil columns) prior to the GC-MS analysis. Determination was performed in a selected ion monitoring (SIM) mode and external standard method was used in the quantification. The method was convenient and rapid after investigating the conditions of pretreatment and determination. Under the optimal conditions, the detection limits of pesticides by the method ($S/N = 10$) were under 0.01 mg/kg. Tests for recovery were carried out by addition of standard at a concentration of 0.01 ~ 0.2 mg/kg, the recoveries of pyrimethanil and fluazifop-butyl were 81.4% ~ 94.6% and 107% ~ 129% with relative standard deviations of 3.3% ~ 11% and 4.0% ~ 9.7%, respectively.

Keywords solid phase extraction (SPE), gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS), sample pretreatment, pyrimethanil, fluazifop-butyl, onion