

# 气相色谱-串联质谱法检测果蔬中己唑醇残留

付晓芳, 李 晶, 王 鹏, 赵晓亚, 尚吟竹, 孙明局, 叶 诚  
(湖北出入境检验检疫局技术中心, 湖北 武汉 430050)

**摘 要:** 建立测定果蔬中己唑醇残留量的气相色谱质谱法。样品用乙腈提取, GCB/NH<sub>2</sub> 固相萃取柱净化, 石油醚:丙酮(15:85, V/V)洗脱, DB-5 ms 色谱柱分离。己唑醇的检出限为 0.02mg/kg, 方法的精密度和回收率分别为 3.03%~9.34% 和 92.24%~106.13%。该方法线性关系好, 重复性好, 准确度高, 可为水果蔬菜中己唑醇残留的监测建立确证方法。

**关键词:** 气相色谱串联质谱; 果蔬; 己唑醇

## Determination of Hexaconazole in Fruits and Vegetables by Gas Chromatography Tandem Mass Spectrometry

FU Xiao-fang, LI Jing, WANG Peng, ZHAO Xiao-ya, SHANG Yin-zhu, SUN Ming-ju, YE Cheng  
(Technology Center, Hubei Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Wuhan 430050, China)

**Abstract:** A gas chromatography-tandem mass spectrometric (GC-MS/MS) method was established for the determination of hexaconazole in fruits and vegetables. Samples were extracted with acetonitrile, and cleaned up on a GCB/NH<sub>2</sub> SPE column using a mixture of petroleum ether and acetone at ratio of 15:85 (V/V). The chromatographic separation was carried out on a DB-5 ms column. The limit of detection for hexaconazole was 0.02 mg/kg. The precision RSDs and spike recoveries of the method were separately 3.03%—9.34% and 92.24%—106.13%. The method was highly linear, repeatable and accurate and thus could offer a suitable method for the accurate determination of hexaconazole residue in fruits and vegetables.

**Key words:** gas chromatography-tandem mass spectrometry; fruits and vegetables; hexaconazole

中图分类号: TS255.7

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2012)04-0227-03

己唑醇, (RS)-2-(2,4-二氯苯基)-1-(1H-1,2,4-三唑-1-基)-己-2-醇, 是一种广泛应用于农业生产的三唑类内吸性杀菌剂, 毒性中等, 能抑制甾醇脱甲基化, 杀菌广谱。可有效地防治子囊菌、担子菌和半知菌所致病害, 如白粉病、灰霉病、黑星病、锈病等。己唑醇在中性和弱酸性介质中水解缓慢, 有效期可达数月。

对己唑醇做出限量规定的组织和国家有欧盟、日本、韩国、法国、以色列、瑞士、德国、荷兰、马来西亚、澳大利亚、比利时等, 其中欧盟除茶叶、花生、芥菜籽、葵花籽、棉籽、蛇麻草、亚麻籽、罂粟籽和芝麻的限量要求为 0.05mg/kg 外, 其他食品中的限量均为 0.02mg/kg, 研究果蔬中己唑醇的检测方法, 具有重要意义。目前我国对己唑醇的研究主要集中在对防治水稻<sup>[1-4]</sup>、小麦<sup>[5]</sup>、黄瓜<sup>[6]</sup>病害的田间试验, 残留量检测报道的比较少。已报道的三唑类的检测方法有气相色谱配电子捕获检测器(gas chromatography-electron capture detector, GC-ECD)<sup>[7-8]</sup>、气相色谱法配氮磷

检测器(gas chromatography-nitrogen-phosphorous detector, GC-NPD)<sup>[9]</sup>、液相色谱法(high-performance liquid chromatography, HPLC)<sup>[10]</sup>、气相色谱质谱法(gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS)<sup>[11-12]</sup>、酶联免疫法(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)<sup>[13]</sup>、液相色谱串联质谱法(LC/MS/MS)<sup>[14]</sup>、毛细管电泳<sup>[15]</sup>等。己唑醇的检测方法有 GC-NPD<sup>[8]</sup>、GC-NPD<sup>[9]</sup>、GC/MS<sup>[12]</sup>、气相色谱串联质谱法(GC/MS/MS)<sup>[13]</sup>、LC-MS/MS<sup>[14]</sup>, 有 GC-MS/MS 检测蜂蜜中己唑醇残留的方法, 尚未见 GC/MS/MS 方法检测果蔬中己唑醇残留量的相关报道。

本实验优化前处理条件, 拟采用气相色谱-质谱法测定果蔬中己唑醇残留量, 为其检测方法的建立提供参考依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

水果、蔬菜 市售。

收稿日期: 2011-02-22

基金项目: 国家认监委标准修订项目(2009B155)

作者简介: 付晓芳(1980—), 女, 工程师, 硕士, 研究方向为食品安全检测。E-mail: fuxf@hbcqi.gov.cn

乙腈(色谱纯) 美国 Fisher 公司; 其余试剂为分析纯; 标准品己唑醇(纯度 $\geq 98\%$ ) Dr. Ehrenstorfer 公司, 己唑醇先用丙酮配成 1mg/mL 的标准储备液, 然后稀释成 10mg/L 的标准工作溶液, 于 4℃ 避光保存, 一个月内使用。

## 1.2 仪器与设备

7000QQQ 气相色谱串联质谱联用仪(质谱图库为 NIST08 版) 美国安捷伦公司; Allegra X-12R 离心机 美国 Beckman 公司; 涡旋混合器 德国 IKA 公司; 旋转蒸发仪 日本 Eyela 公司; 活性炭/氨基固相萃取柱(GCB/ $\text{NH}_2$ , 500mg/500mg) 德国 CNW 公司。

## 1.3 方法

### 1.3.1 样品制备

准确称取搅碎的番茄、苹果、梨子、白菜、萝卜样品 10.0g 于 50mL 离心管中, 加入 10mL 乙腈, 6g 氯化钠, 振荡 20min, 3500r/min 离心, 取乙腈层。10mL 乙腈重复提取, 合并乙腈层, 于 40℃ 减压浓缩至近干, 2mL 石油醚:丙酮(15:85, V/V)溶液溶解, 待净化。

净化: GCB/ $\text{NH}_2$  固相萃取柱依次用 5mL 石油醚:丙酮(15:85, V/V), 5mL 石油醚活化, 上样, 10mL 石油醚:丙酮(15:85, V/V)洗脱。洗脱液经  $\text{N}_2$  吹干后, 1mL 丙酮溶解定容, 待 GC-MS/MS 分析。

### 1.3.2 分析条件

色谱条件: 色谱柱: DB-5 ms(30m  $\times$  0.25mm, 0.25 $\mu\text{m}$ )弹性石英毛细管柱, 载气: 高纯氮气(99.999%); 恒流模式: 1mL/min; 进样方式: 脉冲不分流进样; 进样量: 2 $\mu\text{L}$ ; 柱温程序: 初始温度 50℃ 保持 1min, 以 25℃/min 速率升至 250℃, 保持 10min。

质谱条件: 传输线温度: 250℃; 离子源温度: 230℃, 离子化方式: EI; 电子能量: 70eV; 延迟时间: 8min; 检测方式: 多反应监测(multiple reaction monitoring, MRM), 母离子为  $m/z$  213.3, 子离子为  $m/z$  143.0、178.1、158.5; 碰撞能量(collision energy, CID): 10eV。

## 2 结果与分析

### 2.1 质谱条件的选择

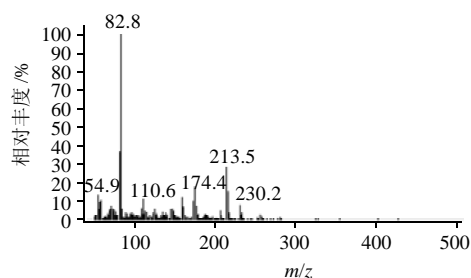


图1 己唑醇标准品全扫描图

Fig.1 Full-scan TIC chromatogram of hexaconazole

将己唑醇标准品溶液进样, 通过全扫描方式确定母离子(图1), 丰度最高的离子为  $m/z$  82.8, 但其分子量太小, 再打碎后干扰太大, 因而选择响应值第二高的离子为母离子。通过对母离子进行二级质谱扫描得到碎片离子, 优化碰撞能量值(图2), 通过多反应监测选择丰度较高的离子对为定性定量离子对。

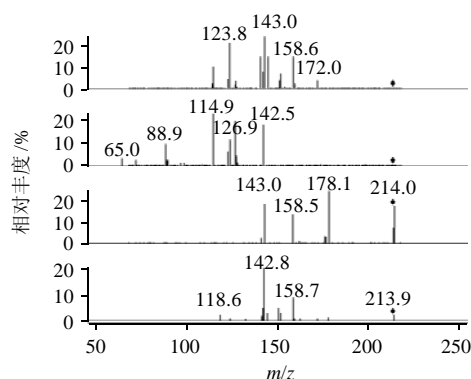


图2 不同 CID 条件下子离子质谱图

Fig.2 Parent ion chromatogram under different CID conditions

### 2.2 样品净化条件的选择

取弗罗里硅土(florisil)固相萃取柱和 GCB/ $\text{NH}_2$  固相萃取柱, 分两次分别用 10mL 石油醚:丙酮(15:85, V/V)和 10mL 的乙腈:丙酮(3:1, V/V)进行洗脱, 洗脱液吹干后用 1mL 丙酮定容, 进行分析, 结果如表1所示, GCB/ $\text{NH}_2$  固相萃取柱, 用石油醚:丙酮(15:85, V/V)洗脱回收率最高。

表1 不同固相萃取色谱柱回收率

Table 1 Effect of solid-phase extraction column type on the recovery of hexaconazole

固相萃取柱	洗脱体积/mL	回收率/%	
		石油醚:丙酮 (15:85, V/V)	乙腈:甲苯 (3:1, V/V)
弗罗里硅土	0~10	75.88	49.30
	10~20	0	7.58
GCB/ $\text{NH}_2$	0~10	88.25	67.34
	10~20	0	0

### 2.3 线性关系及检测限

用空白样品提取液配制一系列的标准混合溶液(0.01、0.02、0.05、0.10、0.20、0.50、1.0mg/L)依次进样, 以组分的峰面积(Y)对相应的含量(X/ $\mu\text{g}$ )作标准曲线  $Y = 56429x - 0.6429$  ( $r = 0.9997$ ), 并以此作为定量依据。对相同浓度的标准试样在同一日内的不同时间进行 10 次重复实验, 己唑醇的峰面积相对标准偏差为 1.0%~1.8%, 说明本方法具有良好的稳定性。

在 10.0g 果蔬样品中添加不同浓度的标准溶液, 添

加量分别为0.02、0.05、0.1mg/kg,按优化条件处理后测定根据仪器的信噪比( $R_{SN}$ ) $\geq 3$ 时的响应值,可以推断得到己唑醇的方法检出限为0.02mg/kg。己唑醇标准品的MRM色谱图见图3。

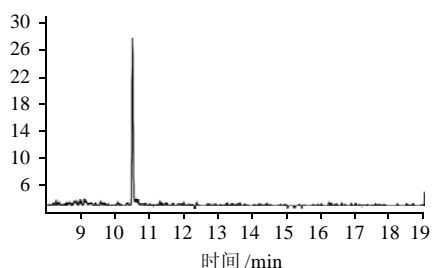


图3 己唑醇标准品MRM色谱图(1mg/kg)

Fig.3 MRM chromatogram of hexaconazole standard (1 mg/kg)

#### 2.4 回收率及精密度

取经测定不含己唑醇残留的果蔬样品10.0g,分别添加0.02、0.05、0.10mg/kg含量水平,充分混合均匀,按照本方法进行气相色谱串联质谱法检测,得到己唑醇的回收率和相对标准偏差,结果见表2。方法的精密度和回收率分别为3.03%~9.34%和92.24%~106.13%。

表2 样品添加的回收率与精密度( $n=10$ )

Table 2 Spiked recoveries and precision (RSDs) for hexaconazole in real samples ( $n=10$ )

基质	添加量/(mg/kg)					
	0.02		0.05		0.10	
	回收率/%	精密度/%	回收率/%	精密度/%	回收率/%	精密度/%
番茄	106.13	5.98	92.24	3.03	97.24	5.85
苹果	95.35	9.34	97.42	7.78	95.00	5.31
梨子	95.91	8.43	99.14	6.02	96.16	6.62
包菜	97.41	7.10	97.10	8.09	94.31	6.83
萝卜	98.11	6.21	100.05	6.22	97.58	6.49

### 3 结论

采用乙腈提取, GCB/ $\text{NH}_2$  固相萃取柱净化, 气相色谱-串联质谱发对果蔬中己唑醇残留的测定进行了研究。该方法线性关系好, 重复性好, 准确度高, 为水果蔬菜中己唑醇残留的监测建立了检测方法和确证方法。

#### 参考文献:

- [1] 董伟明, 程勤海, 凤青, 等. 11% 井冈·己唑醇防治单季晚稻纹枯病药效试验[J]. 上海农业科技, 2011(4): 124-125.
- [2] 吉沐祥, 庄义庆, 缪康, 等. 苯醚·己唑醇对水稻纹枯病菌室内抑菌活性及田间防治效果[J]. 江苏农业学报, 2011, 27(1): 319-220.
- [3] 黄海明, 陈江彬, 仇智灵, 等. 20% 咪唑·己唑醇 WP 防治水稻纹枯病的药效试验[J]. 杭州农业科技, 2011(2): 38-39.
- [4] 全泽宏, 李彦宏, 徐开玉. 己唑醇等药剂防治水稻后期病害效果对比研究[J]. 现代农业科技, 2011(3): 174-174; 179.
- [5] 王信. 30% 己唑醇悬浮剂防治小麦锈病的效果[J]. 江苏农业科学, 2011(4): 127-128.
- [6] 戴启洲. 5% 己唑醇悬浮剂防治黄瓜白粉病药效试验[J]. 植物医生, 2011(2): 36-37.
- [7] MAMUN M I R, PARK J H, CHOI J H, et al. Development and validation of a multiresidue method for determination of 82 pesticides in water using GC[J]. J Sep Sci, 2008, 32(4): 559-574.
- [8] 马妍, 李薇, 仇少萍, 等. 番茄中己唑醇残留降解动态研究[J]. 长江蔬菜, 2009(10): 68-71.
- [9] KARTHICA C, SACHIN P J. Gas chromatographic method for the determination of hexaconazole residues in black tea[J]. J Zhejiang Univ Sci B, 2008, 9(2): 160-164.
- [10] SANAGI M M, SEE H H, AINI W, et al. Determination of pesticides in water by cone-shaped membrane protected liquid phase microextraction prior to micro-liquid chromatography[J]. Journal of chromatography A, 2007, 1152(12): 215-219.
- [11] BERNHARD R S, MUELLER R, BRACK W, et al. Determination of 10 particle-associated multiclass polar and semi-polar pesticides from small streams using accelerated solvent extraction[J]. Chemosphere, 2008, 78(11): 1952-1960.
- [12] 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.
- [13] MANCLUS J J, MORENO M J, PLANA E, et al. Development of monoclonal immunoassays for the determination of triazole fungicides in fruit juices[J]. J Agric Food Chem, 2008, 56(19): 8793-8800.
- [14] VENKATESWARLU P, MOHAN K R, KUMAR C R, et al. Monitoring of multi-class pesticide residues in fresh grape samples using liquid chromatography with electrospray tandem mass spectrometry[J]. Food chemistry, 2007, 105(4): 1760-1766.
- [15] 李琳, 张玉涛, 张进忠. 三唑类农药残留分析研究进展[J]. 安徽农业科学, 2008, 36(22): 9704-9707.