

改进的QuEChERS-气相色谱法测定 果蔬保鲜剂抑霉唑残留

徐小艳¹, 陈巧真¹, 梁晓瑜¹, 杨 敏²

(1.华南农业大学食品质量与安全研究所, 广东省食品质量安全重点实验室, 广东 广州 510640;

2.广州市农业科学研究院, 广东 广州 510308)

摘 要: 建立果蔬保鲜剂抑霉唑残留的改进QuEChERS快速提取净化方法及气相色谱检测方法。样品用含1%乙酸的乙腈溶液提取, 氯化钠和无水硫酸镁盐析后, 取上清液, 加入 N -丙基乙二胺(PSA)与十八烷基硅胶键合相(C_{18})吸附剂净化, 用配有电子捕获检测器的气相色谱测定, 外标法定量。抑霉唑在0.2~5.0mg/L($r=0.9994$)范围内与峰面积呈良好线性关系; 方法检出限($R_{SN} \geq 3$)为0.02mg/kg; 回收率为74.3%~86.7%; 相对标准偏差小于10%。该方法操作简便、准确, 并且成本较低, 适用于果蔬保鲜剂抑霉唑残留的测定。

关键词: 抑霉唑; QuEChERS; 气相色谱; 果蔬; 保鲜剂

Determination of Imazalil Residue in Fruits and Vegetables by Gas Chromatography with Modified QuEChERS

XU Xiao-yan¹, CHEN Qiao-zhen¹, LIANG Xiao-yu¹, YANG Min²

(1. Key Laboratory of Food Quality and Safety of Guangdong Province, Institute of Food Quality and Safety, South China Agricultural University, Guangzhou 510640, China; 2. Guangzhou Academy of Agricultural Sciences, Guangzhou 510308, China)

Abstract: A rapid analytical method based on modified quick easy cheap effective rugged and safe (QuEChERS) sample preparation and gas chromatography (GC) for the analysis of imazalil residue in fruits and vegetables has been developed. Samples were extracted with acetonitrile containing 1% acetic acid and salted out by anhydrous $MgSO_4$ and NaCl. Then, after clean-up on N -propyl ethylenediamine (PSA) cartridge and octadecyl silica bonded phase (C_{18}), the imazalil residue in the supernatant was subjected to GC-ECD analysis. An excellent linearity was achieved for imazalil in the range of 0.2–5.0 mg/L ($r = 0.9994$). The detection limit was 0.02 mg/kg. The average spike recovery rates were in the range of 74.3%–86.7% with relative standard deviation less than 10%. The proposed method was simple, accurate, low-cost and applicable for the determination of imazalil residue in fruits and vegetables.

Key words: imazalil; QuEChERS; gas chromatography; fruits and vegetables; preservative

中图分类号: O657.72

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630(2013)16-0247-04

doi:10.7506/spkx1002-6630-201316050

抑霉唑(imazalil, 分子结构式见图1^[1])是一种高效内吸性广谱杀菌剂, 对果蔬中常见的青霉病、绿霉病等有很好的防治作用^[2]。抑霉唑被广泛应用于采收后的各种水果和蔬菜, 以防止果蔬在运输和贮存过程中腐烂变质, 起到防腐保鲜的作用。研究发现, 人体长期摄入抑霉唑会引起内分泌系统功能紊乱, 对神经系统及肝脏也有影响, 成为危害人类健康的一大隐患。许多发达国家对抑霉唑限制使用并将其列入监控范围, 我国规定柑橘类水果中抑霉唑残留限量为5.0mg/kg^[3]。

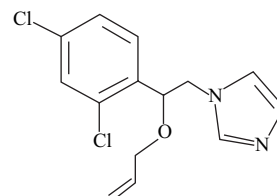


图1 抑霉唑的分子结构

Fig.1 Molecular structure of imazalil

目前报道的测定抑霉唑的方法有高效液相色谱法^[4-7]、色谱-质谱联用法^[8-10]和气相色谱法等^[2,11-12]。

收稿日期: 2012-07-25

基金项目: 广东省农业标准化项目(F11037)

作者简介: 徐小艳(1977—), 女, 高级实验师, 硕士, 研究方向为食品安全检测。E-mail: yanzixu_2001@scau.edu.cn

但这些方法有些前处理步骤复杂,操作繁琐;有些仪器昂贵,测量成本高;而有些则检测对象差别较大。QuEChERS(quick, easy, cheap, effective, rugged, safe)是一种近年来发展起来的样品前处理技术,在农药残留分析中的整体效果具有其他方法无法比拟的优势,尤其适用于高水分、低脂肪含量的水果、蔬菜样品^[13-15]。本实验优化QuEChERS前处理条件,减少样品量和试剂用量,同时优化仪器检测条件,建立基于QuEChERS-GC快速检测柑橘果蔬保鲜剂抑霉唑残留的方法,为制定地方标准提供技术参考。

1 材料与方法

1.1 材料、试剂与仪器

香蕉、菠菜 市售。

抑霉唑标准品(纯度为97.0%) 德国Dr.Ehrenstorfer公司;乙酸乙酯、正己烷(均为分析纯) 天津市大茂化学试剂厂;乙腈、丙酮、氯化钠、醋酸钠、无水硫酸镁(均为分析纯) 广州化学试剂厂;N-丙基乙二胺(PSA, 40~63 μ m) 德国CNW Technologies GmbH公司;十八烷基硅胶键合相(C₁₈, 40 μ m) 天津博纳艾杰尔有限公司。

GC-17A气相色谱仪(含ECD检测器、GC工作站、自动进样系统) 日本岛津公司;DB-5石英毛细管柱(30m \times 0.25mm, 0.25 μ m) 美国Agilent公司;5180R台式高速冷冻离心机 德国Eppendorf公司;HGC-36A干式热氮吹仪 天津恒奥科技发展有限公司;MJ-35BE01A搅拌机 广东美的精品电器制造有限公司;旋涡混匀器 广州IKA公司;AL104电子天平 梅特勒-托伦多公司;Milli-Q超纯水器 美国Millipore公司。

1.2 色谱条件

程序升温:初始温度150 $^{\circ}$ C,保持1min,以15 $^{\circ}$ C/min升至260 $^{\circ}$ C,保持5min;载气:高纯氮气(纯度大于99.999%)。进样口压力200kPa,进样口温度260 $^{\circ}$ C;ECD温度320 $^{\circ}$ C;恒压不分流进样,进样量1 μ L。以保留时间定性,峰面积外标法定量。

1.3 样品处理

1.3.1 样品提取

样品经四分法选取一定量的样本,取可食部分经榨汁机破碎匀浆,称取10.0g(精确到0.1g)于50mL离心管中,加入1g醋酸钠后,准确加入20.0mL含1%(体积分数)乙酸的乙腈溶液,混匀后加入1g氯化钠,旋涡混合30s,加入3g无水硫酸镁,趁热剧烈振摇1min,以4000r/min离心1min。

1.3.2 样品净化

取8.0mL第1次离心的上清液置于已加有250mg PSA吸附剂、50mg C₁₈吸附剂、450mg无水硫酸镁的15mL离

心管中,旋涡混匀30s,以4000r/min离心2min,取4.0mL第2次离心的上清液于试管中,40 $^{\circ}$ C条件下氮气吹干,用正己烷定容至2.0mL,转入自动进样瓶中,待测。

2 结果与分析

2.1 前处理方法的选择与改进

表1 不同溶剂的萃取效果
Table 1 Effect of different extraction solvents

溶剂	肉眼观察	上机检测
丙酮	色素残留较多,试管内壁杂质多氮气吹干难度较大	回收率高于85%,但基质干扰严重
乙酸乙酯	色素残留较多	回收率低于70%
乙腈	色素残留较少	基质干扰较少,回收率高于80%

QuEChERS分析方法测定农药残留常用溶剂为丙酮、乙腈和乙酸乙酯^[16],本实验对3种溶剂的提取效果进行对比。以香蕉、菠菜为研究对象,向空白样品中添加0.25mg/kg抑霉唑标准溶液,进行添加回收实验。由表1可知,乙腈是萃取抑霉唑最合适的溶剂,这和Kate等^[17]的报道一致。在萃取液中加入适量的乙酸可以保护碱敏感性农药,避免分解^[18],也可改善农药在气相色谱柱中的拖尾现象,因而采用含1%(体积分数)乙酸的乙腈溶液作为萃取溶剂。

原QuEChERS方法在净化阶段只采用PSA和硫酸镁,对于色素含量高的果蔬(如叶菜)、含脂和蜡的蔬果(如橙子)的净化效果不是很理想,而且没有氮吹浓缩过程,回收率可能不是很高。故本实验在氮吹浓缩的基础上,又加入了一定量的C₁₈吸附剂。PSA可以去除极性有机酸、某些糖类和脂类^[19];C₁₈吸附剂可以去除较多脂类和固醇类,减少对仪器和色谱柱的损害^[20]。PSA+C₁₈净化剂组合用量由实验优化获得。由图2可以看出,选用250mg PSA+50mg C₁₈时,样品净化效果较理想,目标物回收率较高。

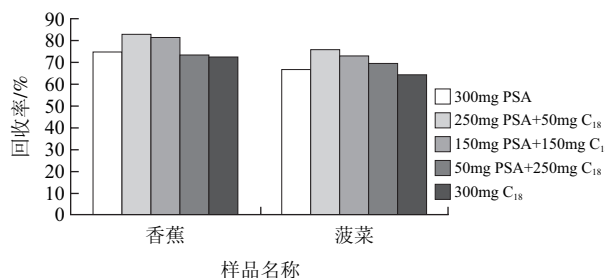


图2 不同净化剂组合下抑霉唑加标回收率的比较

Fig.2 Comparison of recoveries obtained with different clean-up reagents

2.2 QuEChERS前处理法与国标固相萃取方法的比较

在同一批菠菜空白样品中添加0.05、0.25mg/kg和0.50mg/kg三个水平的抑霉唑标准溶液,分别用QuEChERS法和国标固相萃取法^[9]处理,平行测定6次,

计算回收率和相对标准偏差。由图3可知, QuEChERS法与固相萃取法相比, 添加回收率、相对标准偏差均较理想, 同时操作简单, 试剂用量少。

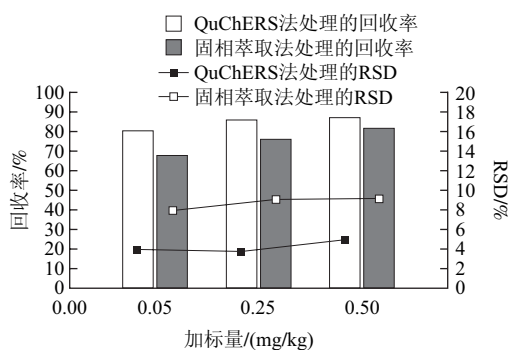


图3 不同前处理方法下抑霉唑加标回收率的比较

Fig.3 Comparison of recoveries obtained with different sample preparation methods

2.3 色谱条件的选择

分别选择NPD和ECD检测器, 研究不同的检测器对抑霉唑分离度和灵敏度的影响。在优化的升温程序下对一定质量浓度的抑霉唑标样进行测定, 抑霉唑在ECD和NPD检测器上的色谱图如图4所示。比较二者的保留时间和峰形, 抑霉唑在ECD检测器上出峰较早, 且峰面积较大, 即反应比较灵敏。因此ECD检测器更适合分离抑霉唑, 色谱条件同1.2节。

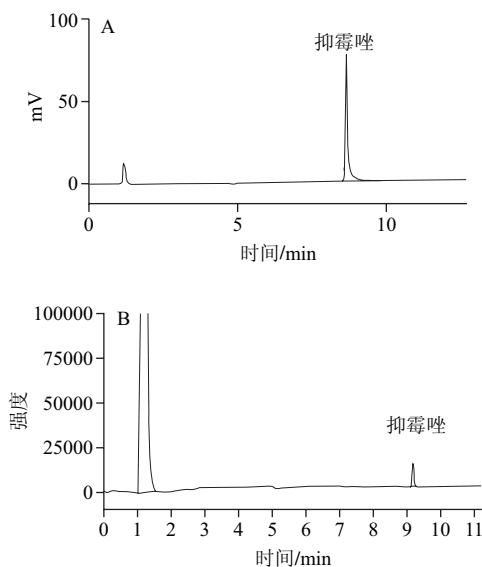


图4 ECD(A)和NPD(B)检测的抑霉唑标品色谱图

Fig.4 Chromatogram obtained with ECD (A) and NPD (B) detect

2.4 标准曲线和检出限

配制质量浓度为0、0.2、0.5、1.0、2.0、5.0mg/L的抑霉唑标准系列溶液, 各取1 μ L注入气相色谱仪, 根据峰

面积(Y)和质量浓度(X, mg/L)绘制标准曲线。本方法标准工作曲线在0.2~5.0mg/L范围呈良好的线性关系, 线性方程为: $Y=136344X-22661$, 相关系数 $r=0.9994$ 。以 $R_{SN} \geq 3$ 确定方法的检出限(LOD)为0.02mg/kg。

2.5 回收率和精密度

在空白样品中分别加入一定量的抑霉唑标准品溶液, 按上述方法提取、净化和检测, 以峰面积计算3种添加水平的回收率及相对标准偏差, 测定结果见表2。回收率为74.3%~86.7%, 相对标准偏差小于10%。

表2 香蕉、菠菜样品的回收率和精密度(n=3)

Table 2 Recovery and precision of imazalil from spiked samples of banana and spinach (n=3)

样品	添加量/(mg/kg)	回收率/%	相对标准偏差/%
香蕉	0.10	79.9	7.9
	0.25	85.5	9.0
	0.50	86.7	9.2
菠菜	0.10	74.3	8.9
	0.25	80.6	8.8
	0.50	81.0	9.6

2.6 样品检测

分别取香蕉、菠菜各3个批次的样本, 按上述实验方法检测。如图5所示, 其中, 检出2个批次的香蕉样品中有抑霉唑残留, 含量为0.020mg/kg和0.023mg/kg; 3个批次的菠菜均没有检出抑霉唑。

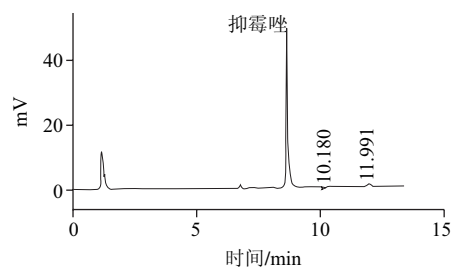


图5 香蕉样品色谱图

Fig.5 Chromatogram of banana sample

3 结论

采用改进的QuEChERS法结合气相色谱法检测果蔬保鲜剂抑霉唑残留。方法的线性相关系数、回收率、相对标准偏差等各项参数指标表明, 方法的灵敏度和精确度均满足实际样品检测的需要。与现有的国家标准相比, 整个样品前处理过程无需其他大型仪器, 一个非专业的分析人员能在30min内完成操作, 非常的简便、快速。相对于较昂贵的质谱检测器及其苛刻的检测条件而言, 电子捕获检测器相对廉价, 易在更多实验室里实现。因此, 该检测方法具有推广基础。

参考文献:

- [1] 应兴华, 徐霞, 陈铭学, 等. 粮谷中抑酶唑残留的气相色谱法测定[J]. 分析测试学报, 2009, 28(4): 398-402.
- [2] 赵其阳, 焦必宁, 王成秋, 等. 气相色谱法同时测定柑桔中抑霉唑、噻菌灵和啉霉胺残留[J]. 现代科学仪器, 2007(1): 77-79.
- [3] 中国疾病预防控制中心营养与食品安全所. GB 2763—2005 食品中农药最大残留限量[S]. 北京: 中国标准出版社, 2005.
- [4] 付新梅, 张丽静, 封顺, 等. 高效液相色谱法同时测定甜瓜样品中的抑霉唑和噻菌灵[J]. 分析化学, 2004, 32(3): 329-331.
- [5] 郭治安, 赵景婵, 王耀, 等. 杀菌剂中抑霉唑含量的离子对高效液相色谱分析[J]. 分析化学, 2004, 32(2): 217-220.
- [6] 高智席, 江忠远, 李新发, 等. 固相萃取-反相高效液相色谱法测定红毛丹中抑霉唑的残留动态[J]. 食品科学, 2012, 33(8): 188-190.
- [7] ITO Y, IKAI Y, OKA H, et al. Application of ion-exchange cartridge clean-up in food analysis: I. Simultaneous determination of thiabendazole and imazalil in citrus fruit and banana using high performance liquid chromatography with ultraviolet detection[J]. J Chromatogr A, 1998, 810(1/2): 81-87.
- [8] CHARLTON A J, JONES A. Determination of imidazole and triazole fungicide residues in honeybees using gas chromatography-mass spectrometry[J]. J Chromatogr A, 2007, 1141(1): 117-122.
- [9] 中华人民共和国秦皇岛出入境检验检疫局. GB/T 19648—2006 水果和蔬菜中500种农药及相关化学品残留的测定: 气相色谱-质谱法[S]. 北京: 中国标准出版社, 2006.
- [10] 王玉健, 黄惠玲, 汪春光, 等. 荔枝中抑霉唑和啉霉胺残留量的超高效液相色谱-串联质谱法同时测定[J]. 分析测试学报, 2010, 29(10): 1068-1072.
- [11] 潘守奇, 孙军, 董静, 等. 气相色谱法测定水果和蔬菜中异丙威、啉霉胺、抑霉唑残留量[J]. 食品科学, 2008, 29(12): 516-518.
- [12] NAVICKIENE S, RIBEIRO L. A simple and rapid extraction for gas chromatographic determination of thiabendazole and imazalil residues in lemons[J]. J Braz Chem Soc, 2002, 13(5): 592-596.
- [13] 刘玉波, 樊明涛, 梁俊, 等. 改进的QuEChERS-GC-ECD法测定苹果中4种拟除虫菊酯农药残留[J]. 西北农业学报, 2009, 18(4): 61-65.
- [14] 唐婧, 杨秀培, 史兵方. QuEChERS-气相色谱法快速测定油条中的丙烯酰胺[J]. 食品科学, 2008, 29(9): 458-460.
- [15] ANASTASSIADES M, LEHOTAY S J, STAJINBAHER D, et al. Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and “dispersive solid-phase extraction” for the determination of pesticide residues in produce[J]. J AOAC Int, 2003, 86(2): 412-431.
- [16] 王菲, 李彤, 马辰. 超高效液相色谱-串联质谱法测定中药材中三唑类杀菌剂及三唑类除草剂的残留量[J]. 色谱, 2013, 31(3): 191-199.
- [17] KATE M, LEHOTAY S. Evaluation of common organic solvents for gas chromatographic analysis and stability of multiclass pesticide residues[J]. Journal of Chromatography A, 2004, 1040(2): 259-272.
- [18] 黄霞, 宋莹, 张耀海, 等. QuEChERS-GC/MS 快速检测柑橘中50种农药残留[J]. 食品科学, 2011, 32(18): 268-273.
- [19] 刘亚伟, 董一威, 孙宝利, 等. QuEChERS 在食品中农药多残留检测的应用研究进展[J]. 食品科学, 2009, 30(9): 285-289.
- [20] 李琰, 蔡跃, 杨胜琴, 等. 改进的QuEChERS方法配合GPC-GC-MS在线联用系统测定果蔬中31种农药残留[J]. 中国卫生检验杂志, 2011, 21(2): 277-283.