

衍生化气相色谱法测定鸭梨中的咪鲜胺及代谢产物

应杨铤

启迈检测有限公司

DOI:10.12238/bmtr.v7i2.13410

[摘要] 本文建立了鸭梨中测定咪鲜胺的痕量检测方法。使用衍生化气相色谱法,五氯苯酚作内标,内标法定量。对鸭梨中的咪鲜胺进行分析。在0–1.3772 $\mu\text{g/mL}$ 范围内,其线性系数为0.9994,方法检出限为0.010g/kg,平均加标回收率范围为93.20%–102.93%,相对标准偏差小于2.20%,表明该方法能满足鸭梨中咪鲜胺的分析要求。

[关键词] 咪鲜胺; 氯酚类; 气相色谱法

中图分类号: R978.2+3 **文献标识码:** A

Determination of prochloraz and its metabolites in Ya pears by derivatization gas chromatography

Yangting Ying

Qimai Testing Co., Ltd.

[Abstract] In this paper, we establish a method for measuring prochloraz in pear. Using derivatized gas chromatography with pentachlorophenol as internal standard. Of the prochloraz in pear. In the range of 0–1.3772 $\mu\text{g/mL}$, the linear coefficient is 0.9994, the detection limit of the method is 0.010g / kg, the average spike recovery range is 93.20% –102.93%, and the relative standard deviation is less than 2.20%, indicating that the method can meet the analysis requirements of prochloraz in pear.

[Key words] prochloraz; chlorophenol; gas chromatography method

咪鲜胺是一种广泛应用于蔬菜水果中的可降解类农药,其本身无毒性,但降解后形成的2,4,6-三氯苯酚是一种毒性强,生物降解困难的环境污染化合物,长期接触有致癌风险^[1]。常规测定咪鲜胺的方法是直接测定三氯苯酚的含量,一般采用气相色谱法^[2]、气相色谱-串联质谱法^[3],质谱法对仪器和色谱柱要求高,色谱法净化水洗复杂,由于乙酰衍生化法为测定五氯苯酚等氯酚类化合物的常用检测手段^[4],本文通过将咪鲜胺降解后的三氯苯酚再度乙酰化对该方法进行优化改进,能更准确地测得鸭梨中咪鲜胺的含量,对日常咪鲜胺的检测防范有借鉴意义。

1 材料与方法

1.1 试剂及仪器

咪鲜胺、五氯苯酚标准品,咪鲜胺为99.9%的纯品,五氯苯酚为100 $\mu\text{g/mL}$ 乙腈溶剂标准储备液,购于Dr. Ehrenstorfer GmbH; 正己烷、乙酸乙酯、环己烷、乙腈、冰醋酸、吡啶盐酸盐、沸石、乙酸酐、无水硫酸钠、碳酸钾、氯化钠均为分析纯,购于上海化学试剂公司。实验用水为超纯水,煮沸30min,用前检查确保无干扰峰。

岛津2010B气相色谱仪/电子捕获器(GC/ECD),HP-5毛细管

柱(30m*0.25mm*0.32 μm) (Agilent, 美国); 氮吹仪; 五位电子分析天平; 高温烘箱; 均质机。

1.2 试验方法

1.2.1 色谱条件色谱柱

HP-5毛细管柱; 气化室温度: 250℃; 检测器温度: 300℃; 程序升温: 120℃ (1min), 以20℃/min升温至220℃, 以30℃/min升温至300℃ (2min); 载气: 99.999%高纯N₂, 流量1.0mL/min; 尾吹气: 60mL/min; 进样量: 1.0 μL ; 进样方式: 分流进样, 分流比: 5:1。

1.2.2 标准配制与样品处理

标准配制: 称取8.6mg咪鲜胺标准品于50mL容量瓶中, 乙腈溶液稀释定容制得172 $\mu\text{g/mL}$ 咪鲜胺标准储备液, 另取5mL于50mL容量瓶中稀释至17.2 $\mu\text{g/mL}$ 标准应用液。取1mL五氯苯酚标准储备液(100 $\mu\text{g/mL}$) 于100mL容量瓶中, 稀释定容至1 $\mu\text{g/mL}$ 五氯苯酚标准应用液。

样品处理: 取10g鸭梨基质于100mL离心管中, 加入1mL五氯苯酚作内标, 再加入1%浓度乙酸-乙腈溶液20mL, 一勺氯化钠, 均质机均质1min, 离心后取上清液于50mL比色管中氮吹至干, 加入3g左右吡啶盐酸盐, 1g左右沸石, 220℃烘箱水解2h, 冷却后加入

10mL超纯水，涡旋溶解，加入10mL环己烷-乙酸乙酯（50：50）溶液萃取至50mL离心管中，重复萃取两次共20mL，于新的离心管中加入10mL0.1%碳酸钾溶液，重复萃取两次共20mL，加入1mL乙酸酐，充分反应20min，准确加入5mL正己烷溶液，涡旋提取后通过无水硫酸钠除水并过滤膜至进样瓶中上样。

1.2.3标准曲线

分别取50 μL、100 μL、200 μL、300 μL、400 μL于10g鸭梨基质中，同样品相同前处理，以咪鲜胺和五氯苯酚的峰面积比值作为横坐标，咪鲜胺浓度作为纵坐标进行回归分析，作标准曲线。

2 结果与分析

2.1前处理条件的优化

2.1.1待测物的优化

由于NY/T1456-2007为外标法定量，且前处理复杂，前处理过程操作对实验结果影响较大^[5]，因而改为内标法定量；又因三氯苯酚、五氯苯酚在ECD检测器中分离响应差，对色谱柱、仪器条件要求高，标准要求的2.5mL/min载气流速对色谱柱损耗较大，从而对其进行衍生化处理，提高其灵敏度，降低仪器、色谱柱对样品检测的要求。在气相色谱测酚类物质中，以乙酸酐为衍生化试剂最为便捷，其可将五氯苯酚和三氯苯酚快速转化为极性低于本体的酯类物质，增加了稳定性和挥发性，大大降低了仪器条件对实验的要求。

2.1.2衍生化条件的优化

酚类化合物的乙酰化反应可在水溶液中进行，因此，先通过有机试剂萃取，再利用碱性水溶液反萃取除去666、DDT等半挥发物的干扰，在水溶液中进行乙酰化反应^[6]。

2.1.3衍生化萃取介质的优化

出于对极性强弱以及提取效率等因素的考虑，环己烷与乙酸乙酯作为合适的萃取剂广泛应用于氯酚类化合物检测中^[7]。

萃取10g果蔬样品加入20mL酸化乙腈溶剂后均质离心取上清液至50mL离心管中氮吹吹干，加入1mL浓度为1 μg/mL的三氯苯酚标准溶液模拟咪鲜胺完全水解。加入10mL超纯水涡旋溶解后分三组有机试剂（环己烷、环己烷-乙酸乙酯50：50、环己烷-乙酸乙酯20：80）分别提取测试其提取效率，每组六平行，峰面积与萃取试剂的关系如表1所示。

表1 鸭梨中咪鲜胺的峰面积与萃取试剂的关系（n=6）

化合物	萃取试剂	咪鲜胺的峰面积						平均值	RSD/%
咪鲜胺	环己烷	806441	1262945	1021768	1664188	1465160	1752388	1328815	27.8
	乙酸乙酯-环己烷=50：50	1867170	1894948	1921787	1831757	1946253	1990071	1908664.333	3.0
	乙酸乙酯-环己烷=80：20	1985978	2113492	2081490	1995518	2144167	2015506	2056025.167	3.2

由表1可知，直接用环己烷进行提取效果最差，乙酸乙酯与环己烷比例为50：50与80：20区别不大，考虑到ECD检测器极性条件影响，选用乙酸乙酯与环己烷比例为50：50作为萃取剂。

2.1.4水解反应温度的优化

NY/T1456-2007中对于水解反应的温度要求为在210℃-240℃之间，在保证其他条件相同的情况下，衍生化条件为本试验最佳衍生条件，取三组分别在220℃、230℃、240℃条件下水解反应，其峰面积同水解温度的关系如表2所示。

表2 鸭梨中咪鲜胺的峰面积与水解温度的关系（n=6）

化合物	水解温度（℃）	咪鲜胺的峰面积						平均值	RSD/%
咪鲜胺	220	1833653	1898493	1965974	1886245	2033932	1882865	1916860	3.72
	230	1726491	1762772	1910162	1659155	1712938	1841056	1768762	5.19
	240	915219	1014011	859719	1361271	1269209	1473391	1148803	22.06

由表2可知，咪鲜胺在220℃-240℃的范围内，咪鲜胺的峰面积随着水解温度的上升而下降，相对标准偏差也随之提高，因此，选择220℃作为最佳水解温度。

2.2标准色谱图、标准曲线和方法检出限

本实验采用内标标准曲线法定量。五氯苯酚作内标加到样品溶液中共同衍生化，可有效扣除样品前处理对测定的影响，同时克服因进样量及操作条件波动引起的偶然误差。在程序升温优化后的色谱条件下，色谱干扰少，五氯苯酚乙酸酯和三氯苯酚乙酸酯分离度高，出峰尖锐，见图1，标准曲线的回归方程与线性拟合度见表3。

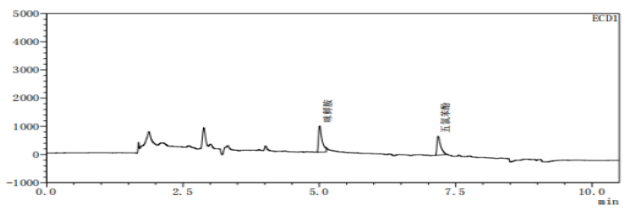


图1 咪鲜胺及五氯苯酚标准色谱图

表3 线性范围、线性方程、相关系数及检出限

名称	线性方程	回归系数(r ²)	线性范围(μg/mL)	方法检出限(g/kg)
咪鲜胺	Y=1.18249x+0.0880938	0.99977	0.172-1.376	0.010

10g样品中加入一定量低浓度的咪鲜胺标液与1mL五氯苯酚内标，连续测定该空白加标溶液6次，计算其三倍的标准偏差，结果见表3，符合要求。

2.3样品加标回收率与精密度实验

用该方法测定本底未检出的鸭梨样品，在该样品上进行三梯度六平行回收率测定，结果见表4。

表4 鸭梨中咪鲜胺的加标回收率及相对标准偏差（n=6）

化合物	添加水平(μg/g)	实际测得浓度(μg/g)						平均回收率/%	RSD/%
咪鲜胺	0.129	0.123	0.119	0.119	0.119	0.122	0.119	93.2	1.27
	0.258	0.266	0.274	0.268	0.267	0.276	0.258	103.9	2.20
	0.516	0.542	0.514	0.525	0.532	0.513	0.542	101.8	2.23

由表4可知，咪鲜胺三种梯度的加标回收率在93.2%-103.9%之间，相对标准偏差(RSD)小于5%，符合要求。

3 结论

本文对乙酰衍生化气相色谱法测定鸭梨中的咪鲜胺及其代谢产物进行了实验条件的分析和优化。结果表明：采用环己烷-乙酸乙酯(50:50)大大提高了三氯苯酚、五氯苯酚的萃取效率，水解温度为220℃时，咪鲜胺的峰面积和精确度最高。本方法通过内标法定量测定，快速、准确、重复性好，无杂峰干扰，对常规农产品监控检测有着积极作用。

[参考文献]

[1]陈平,柳训才.咪鲜胺的应用概况及其残留检测研究[J].湖北农业科学,2007,(03):478-480.

[2]刘志鹏,杨李胜,黄敏兴,等.气相色谱法测定水果中咪鲜胺残留量的前处理方法探究[J].食品工业,2020,41(06):205-209.

[3]胡文彬,魏琴芳,叶琼环,等.气相色谱-串联质谱法测定葱中咪鲜胺及其代谢物2,4,6-三氯苯酚的含量[J].实验室检

测,2023,1(08):20-25.

[4]李梦耀,杨婧晖,钱会.五氯苯酚测定方法研究进展[J].分析测试技术与仪器,2007,(04):285-290.

[5]中华人民共和国农业部.NY/T1456-2007水果中咪鲜胺残留量的测定气相色谱法[S].北京:中国农业出版社,2007.

[6]汤颀,汪浩,马武生,等.衍生化气相色谱法测定水中的氯酚类[J].化学工程师,2009,23(11):33-35.

[7]张权,李磊,林野,等.正交实验优化BSTFA衍生-气相色谱法快速测定水中4种氯酚化合物[J].环境与职业医学,2017,34(9):831-835.

作者简介:

应杨铤(1997--),男,汉族,浙江省杭州市人,本科,助理工程师,食品检测。