

香蕉中戊唑醇残留分析方法的比较研究

汤 婕¹, 岳永德^{2*}, 汤 锋¹, 花日茂¹

(1. 安徽农业大学资源与环境学院, 合肥 230036; 2. 国际竹藤网络中心, 北京 100102)

摘 要: 确立香蕉中戊唑醇残留检测方法, 用丙酮: 水 (60: 5, V: V) 为萃取溶剂, 液液分配后浓缩至近干, 定容后用气相色谱 (GC-NPD) 测定。戊唑醇的最小检出量为 1×10^{-11} g, 最低检测浓度为 $0.01 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。香蕉中添加浓度为 0.025 、 0.05 、 $0.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 其回收率分别为 $98.12\% \sim 109.23\%$ 、 $70.37\% \sim 99.57\%$ 和 $78.13\% \sim 94.53\%$, 变异系数分别为 5.55% 、 17.93% 和 9.58% 。该方法的准确度和灵敏度满足农药残留分析的要求。

关键词: 戊唑醇; 香蕉; 气相色谱法 (GC); 农药残留分析

中图分类号: X592

文献标识码: A

文章编号: 1672-352X(2008)02-0275-05

Development of method for determination of tebuconazole residue in banana

TANG Jie¹, YUE Yong-de², TANG Feng¹, HUA Ri-mao¹

(1. School of Resources and Environment, Anhui Agricultural University, Hefei 230036;

2. International Center for Bamboo & Rattan, Beijing 100102)

Abstract: A procedure involving an extraction and cleaning up steps and further gas chromatographic analysis with NPD to determine residues of tebuconazole in banana is proposed. Residues of tebuconazole were extracted from banana with acetone, and cleaned up with petroleum ether by liquid-liquid partition. The methods are validated with fortified samples at different concentration levels ($0.025 \sim 0.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$). Average recoveries ranged from 70.37% to 99.57% with relative standard deviations between 5.55% and 17.93% . Limit of detection is $0.01 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$. The proposed method can be considered as an appropriate method for monitoring tebuconazole in banana.

Key words: tebuconazole; banana; GC; pesticide residue analysis

戊唑醇是一种羟乙基三唑衍生物, 属低毒、高效广谱的内吸杀菌剂^[1]。该化合物由德国拜耳公司于 1986 年最先开发成功, 英文通用名称: Tebuconazole, 商品名称: 立克秀, Raxil; Horizon; Lynx (种子处理用); Elite, Folicur (喷雾用); Bayer-HWG-1608; HGW1608; 化学名称: (RS)-1-(4-氯苯基)-4,4-二甲基-3-(1H-1,2,4-三唑基甲基)戊醇-3; (RS)-1-(4-chlorophenyl)-4,4-dimethyl-3-(1H-1,2,4-triazol-1-ylmethyl)pentan-3-pentanol, 分子式: $\text{C}_{16}\text{H}_{22}\text{ClN}_3\text{O}$, 分子量: 307.8, CA 登记号 107534-96-3; 80443-41-0。

戊唑醇施用后, 在作物中残留水平如何这一问

题受到广泛关注。为了避免戊唑醇在作物中的残留对消费者造成危害, 在制订 MRL 值的同时, 具有准确、可行的残留分析方法是检测戊唑醇残留量的重要保证。戊唑醇的残留分析方法使用最多的是气相色谱, 而高效液相色谱主要是用于水中戊唑醇的残留检测。美国食品与药品监督管理局 (FDA)^[2] 根据样品含水量、含糖量制定了戊唑醇残留分析方法; 国际公职分析化学家协会 (AOAC)^[3]、德国 DFG-S19^[4]、美国环境保护署 (EPA)^[5] 报道了戊唑醇在不同基质中的残留分析方法, Brennecke (1991 年)^[6]、Mestrse^[7] (1996 年) 分别提出了辣椒、桃子、

收稿日期: 2006-05-11

基金项目: 国家“十五”重大科技专项子项目“重要技术标准研究”资助。

作者简介: 汤婕 (1978-), 女, 讲师。* 通讯作者 (Corresponding author)

西红柿、葡萄酒、葡萄等植物样品中戊唑醇残留检测方法。Sprecht^[8] (1977年)提出了植物和土壤样品中戊唑醇残留分析方法。南京农业大学陈齐斌^[9]在其硕士论文中提出小麦中戊唑醇残留分析方法。目前国内外尚没有香蕉中戊唑醇残留分析方法标准,严重影响和制约了农产品的内外贸易。本试验作为国家“十五”重大科技专项“重要技术标准研究”子项目“7项农药残留检测方法标准研究”的一部分,系统地研究了不同提取、净化方法对香蕉中戊唑醇添加回收的影响,旨在建立一套适合中国国情的香蕉中戊唑醇的残留分析方法。该方法的建立,不仅可以为制定该农药的安全使用准则提供依据,对保障消费者身心健康、保护环境以及促进我国农产品进出口贸易都具有重要的现实意义。对于良好农业实践(GAP)的实施也将发挥重要的指导作用。

1 材料与方法

1.1 仪器设备

Finnigan Trace GC plus 气相色谱仪;RE-52 旋转浓缩蒸发器(上海青浦沪西仪器厂);N-EVAPTM 112 氮吹仪(Organomation Associates, Inc);超声波清洗器 KQ100(昆山市超声波仪器有限公司);SHA-C 水浴恒温振荡器(北京仪城科技公司);SQ2119 多功能食品加工机(上海帅佳电子科技有限公司)。

1.2 供试农药与试剂

戊唑醇(99.0%,国家农药质检中心,北京)。

丙酮,石油醚,氯化钠等均为分析纯;实验用水为蒸馏水;无水硫酸钠,450℃烘4h。

1.3 试验方法

1.3.1 标准曲线绘制 (1)母液配制:用万分之一电子天平准确称取戊唑醇5.0mg,溶于丙酮中,配制成 $1 \times 10^{-3} \text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的标准母液。

(2)工作曲线的制作:用丙酮将标准母液配制成为0.05、0.1、0.5、1和2 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的工作溶液,进样分析,以进样量(ng)为横坐标,峰面积为纵坐标,作标准曲线。

1.3.2 农药的添加 市购新鲜香蕉,去皮、切碎后放入食品搅拌机中搅拌成糊状,准确称取10.0g样品于100mL具塞三角瓶中,分别加入一定体积的戊唑醇工作标准溶液,混匀,配制成不同的添加浓度,静置平衡,每种浓度设置3个重复,同时设置空白。

1.3.3 香蕉样品的前处理 (1)提取:添加戊唑醇的香蕉样品中分别加入30mL丙酮、乙腈、甲醇、乙酸乙酯、丙酮/石油醚,再分别加5mL水、不加水,

2g氯化钠,分别进行机械振荡提取、组织匀浆提取和超声波提取,合并提取液待液液分配净化。

(2)净化:合并2次提取液转入250mL的分液漏斗中,分别加入不同浓度、不同用量的氯化钠溶液,分别用石油醚、二氯甲烷液液分配1~2次,有机相过无水硫酸钠入浓缩瓶中,在45℃下减压浓缩至近干,用石油醚定容,待气相色谱检测。

1.3.4 气相色谱检测条件 Finnigan Trace GC plus 气相色谱仪,具NPD,色谱柱:DB-1MS,30m \times 0.25mm \times 0.25 μm 毛细管柱,操作条件:检测温度:280℃;进样口:240℃,不分流进样;程序升温:60℃保持1min;以40℃ \cdot min⁻¹升至280℃保持1min。载气:99.999%氮气,1mL \cdot min⁻¹;尾吹气:氮气,16.5mL \cdot min⁻¹;燃烧气:氢气,3mL \cdot min⁻¹;空气,160mL \cdot min⁻¹。

2 结果与分析

2.1 标准曲线的绘制

用一定浓度的标准工作溶液进样分析,以进样量(ng)为横坐标,峰高为纵坐标,作标准曲线(图1)。戊唑醇标准工作溶液的进样量与色谱峰高度存在显著的线形关系,其线形方程为

$$y = 5921019.0801x - 1056105.4569$$

$$(R^2 = 0.9914)$$

该测定条件下戊唑醇标准样色谱图见图2所示,最小检出量为 $1 \times 10^{-11} \text{g}$,最低检出浓度为 $0.01 \text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,保留时间为6.96min。

2.2 提取方法的确立

在添加浓度为 $1.0 \text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的香蕉样品中分别加入30 \times 2mL不同提取溶剂,比较了不同提取溶剂对戊唑醇残留添加回收率的影响(表1)。结果表明,用丙酮加5mL水做提取溶剂所得添加回收率最高,平均添加回收率达84.71%,且与其他提取溶剂存在显著性差异。在添加浓度为 $1.0 \text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的香蕉样品中加入30 \times 2mL丙酮,比较了机械振荡、超声波振荡和组织匀浆法等不同提取方法对戊唑醇残留添加回收率的影响(表2)。结果表明,机械振荡(30+30)min所得的添加回收率最高,提取方法最好。

2.3 净化方法的确立

在添加浓度为 $1 \text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的香蕉样品中用30mL丙酮为萃取溶剂,加2g氯化钠,机械振荡法提取2次,每次30min,合并提取液过滤到250mL的分液漏斗中,分别在分液漏斗中加入氯化钠溶液,分别比较10%、20%和25%和过饱和氯化钠溶液在

40、60、80、100、120、150 和 180 mL 用量下和不同分配体系对戊唑醇残留添加回收结果的影响。结果表

明液液分配时选择 80 mL 10% 氯化钠溶液为最适用量,并选用 30 mL 石油醚,分配 2 次(表 3 和表 4)。

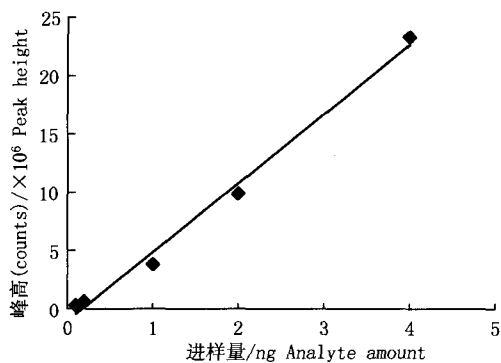


图 1 戊唑醇标准曲线

Figure 1 The standard curve of tebuconazole

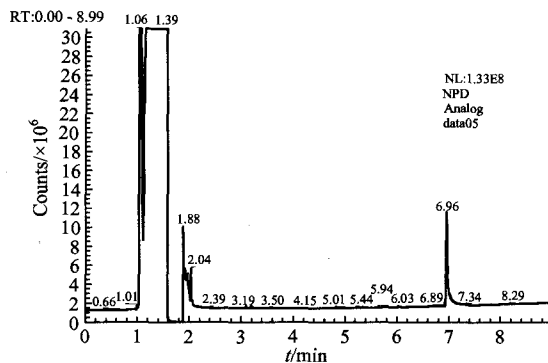


图 2 戊唑醇标样色谱

Figure 2 The GC chromatogram of tebuconazole

表 1 不同提取体系对香蕉中戊唑醇添加回收结果的影响

Table 1 Recoveries and variability of tebuconazole in banana by selected extract solvents

加水量/mL Added water amount	乙腈 Acetonitrile	甲醇 Methanol	丙酮 Acetone	乙酸乙酯 Ethyl acetate	丙酮/石油醚 Acetone/ Petroleum ether
0	29.26 ^a	70.45 ^b	69.21 ^b	69.84 ^b	41.61 ^a
5	38.90 ^a	55.12 ^b	84.71 ^c	39.58 ^a	69.21 ^b

注:不同小写字母表示在 $\alpha = 0.05$ 水平上差异显著。下同。

Note: Different small letters followed the data mean significant difference at 0.05 level. The same below.

表 2 不同提取方式对香蕉中戊唑醇添加回收率的影响

Table 2 Recoveries and coefficients of variability of tebuconazole in banana by selected extract methods

提取方式 Extract method	提取时间/min Extract time	回收率/% Recoveries	标准偏差 Standard deviation	变异系数/% Coefficient of variability
机械振荡法 Mechanical oscillation	30	70.36	3.44	4.89
	30 + 30	92.72	8.49	9.15
组织匀浆法 Homogenize mixer	5	63.29	9.52	15.04
超声波提取法 Ultrasonic extraction	10	75.49	23.02	30.49

表 3 氯化钠溶液浓度及用量对香蕉中戊唑醇添加回收率的影响

Table 3 Effect of different NaCl solution's concentration and volume on recovery of tebuconazole in banana

浓度/% Concentration	用量/mL Amount						
	40	60	80	100	120	150	180
10	39.73 ^{bc}	43.23 ^c	80.22 ^d	80.44 ^d	81.94 ^d	85.51 ^{de}	85.93 ^{de}
20	30.90 ^a	32.34 ^{ab}	38.67 ^{bc}	46.50 ^c	38.32 ^{bc}	-	-
25	33.03 ^{ab}	36.76 ^b	37.46 ^b	40.25 ^c	36.03 ^b	-	-
过饱和 Over saturated	28.98 ^a	30.69 ^a	32.24 ^{ab}	34.73 ^b	33.53 ^{ab}	-	-

2.4 试验方法的确立

通过影响因子比较,确立香蕉中戊唑醇残留检测方法:在添加戊唑醇的香蕉样品中分别加入 30 mL 丙酮,再加入 5 mL 水和 2 g 氯化钠,置于机械振荡器中振荡 30 min,提取 2 次,合并提取液待液液

分配净化。合并 2 次提取液转入 250 mL 的分液漏斗中,加入 80 mL 10% 氯化钠溶液,分别用 30 mL × 2 的石油醚液液分配,有机相过无水硫酸钠入浓缩瓶中,在 45℃ 下减压浓缩至近干,用石油醚定容至相应的体积待气相色谱检测。

2.5 添加回收试验结果

根据戊唑醇在香蕉中的最高残留限量 0.05 mg·kg⁻¹[10],在香蕉样品中加入一定体积的戊唑醇标准工作液将添加浓度分别设定为 0.025、0.05 和 0.5 mg·kg⁻¹。采用上述方法确立的提取方法和净化方法完成添加回收试验。结果表明(表 5),在添

加浓度范围内,香蕉中戊唑醇的平均添加回收率为 70.37% ~ 109.23%, 变异系数为 5.55% ~ 17.93%,该残留分析方法的准确性、精确性均达到农药残留分析的要求。戊唑醇在香蕉中的添加样品和空白样品色谱图如图 3 所示。

表 4 不同分配体系和分配次数对戊唑醇添加回收结果的影响

Table 4 Recoveries and coefficients of variability of tebuconazole in banana by different extraction solvent in liquid-liquid partition

分配体系 Partition system	分配次数 Partition times	平均回收率/% Average recoveries	标准偏差 Standard deviation	变异系数/% Coefficient of variability
二氯甲烷 Dichloromethane	1	71.29	6.73	9.44
	2	71.57	4.56	6.37
石油醚 Petroleum ether	1	69.21	6.84	9.88
	2	84.71	5.78	6.82

表 5 香蕉中戊唑醇的添加回收结果

Table 5 Recoveries of tebuconazole from fortified banana samples

添加浓度/mg·kg ⁻¹ Fortified concentration	回收率/% Recoveries			平均回收率/% Average recoveries	变异系数/% Coefficient of variability
	1	2	3		
0.025	98.12	109.23	101.39	102.91	5.55
0.05	79.64	70.37	99.57	83.19	17.93
0.5	85.06	78.13	94.53	85.91	9.58

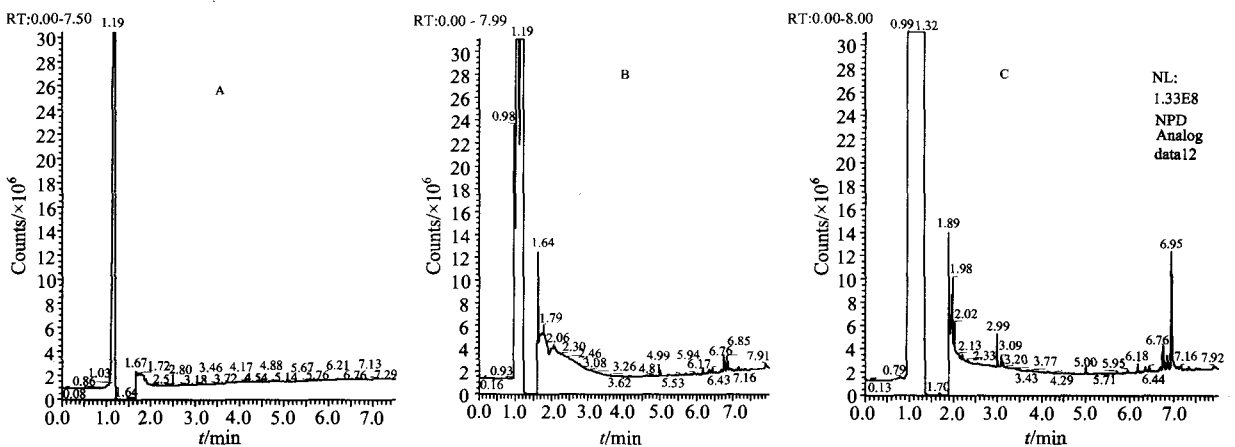


图 3 石油醚空白(A)、香蕉空白(B)和香蕉(C)中戊唑醇添加回收色谱图

Figure 3 GC chromatograms of (A) unspiked solvent, (B) unspiked banana, (C) banana spiked with tebuconazole

3 讨论

在不同提取溶剂和净化体系的筛选中,丙酮的提取效果可以满足农残分析的要求。且用丙酮提取香蕉中的戊唑醇,经过液-液分配(于分液漏斗中加入 80 mL 10% NaCl 溶液,以 30 mL 的石油醚萃取

2 次)就能获得较好的试验结果,无需进一步进行净化可以直接进样分析,减少了实验步骤以及有机溶剂的用量,达到节约、省时的目的。在不同提取方法的比较上,本方法应用机械振荡法提取,提取时间需要 60 min,虽然提取时间较长,但结果的重现性很好。本试验筛选出的戊唑醇残留分析方法具有有机

溶剂用量适中,且具有相对较好的环境相容性,使得该方法更具环保性,对操作者以及外界环境更加安全。而且具有净化过程简便、试验成本低等优点。因此对于我国而言,本方法可作为戊唑醇残留分析方法,对推广戊唑醇在我国的合理使用,以及我国的农产品出口贸易都将起到积极的指导作用。该方法是适合我国国情的一套残留分析方法,一般实验室均可以操作。

美国环保署(EPA)颁布了戊唑醇在香蕉、大麦、燕麦和小麦中的最高残留限量(MRL)为 $0.05 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 樱桃和花生壳中的 MRL 值为 $4.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 牛奶中的 MRL 值为 $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 油桃和桃子中的 MRL 值为 $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。WHO 和 FAO 也制订了戊唑醇的 MRL 值均为 $0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。参照国外的最低 MRL 值以及中国的香蕉中戊唑醇的残留限量标准,本方法完全适用于戊唑醇的残留分析要求。

参考文献:

- [1] 刘长令. 世界农药信息手册[M]. 北京: 化学工业出版社, 2000: 67.
- [2] US Food and Drug Administration(FDA): Pesticide analytical manual. Volume I: Multi-residue Methods [R]. Current Verision, October, 1997.
- [3] Aolo Cabras, Alberto Angioni, Vincenzo L. Gas chromatographic determination of cyprodinil, fludioxonil, pyrimethanil, and tebuconazole in grapes must and wine [J]. AOAC, 1997, 80(4): 868.
- [4] Specht W. Organochlorine, organophosphorus, nitrogen-containing and other pesticides S19, manual of pesticide residue analysis [M]. VCH Verlagsgesellschaft, Weinheim, Germany, 1987.
- [5] Maasfeld W. Gas chromatographic method for determination of residues of tebuconazole in crops, processed products, soil and water [R]. EPA Ref: 171-4, Residue Analytical Method-Plants, 1992: 13-17.
- [6] Brennecke R. A method for determining residues of the fungicides Euparen, Euparen M and Folicur in plant material and beverages by gas chromatography [J]. Pflanzenschutz-Nachrichten Bayer, 1989, 42: 237-298.
- [7] Mestres R Reulet. Residues of tebuconazole in plum [R/OL]. Report No: RPRUN932/03 (trial Nos. : RPRUN-932-03-A, RPRUN-932-03-B, RPRUN-932-03-C) and RPRUN933/02 (trial Nos. : RPRUN-933-02-A, RPRUN-933-02-B, RPRUN-933-02-C). France, unpublished, 1995. http://www.fao.org/ag/AGP/AGPP/Pesticid/JMPR/Download/97_eva/Tebucon.PDF.
- [8] Specht W. Gas-chromatographic method for determining residues of the fungicides fuberidazole, fluotrimazole and triadimefon in plants and soil [J]. Pflanzenschutz-Nachrichten Bayer, 1977, 30(1): 55-71.
- [9] 陈齐斌. 戊唑醇在小麦上的残留消解与土壤环境行为研究与安全性评价 [D]. 南京: 南京农业大学, 2000: 56.
- [10] 中华人民共和国农业部农药检定所. 农产品农药残留限量标准汇编 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2000: 50.