

基于离子液体的分散液相微萃取-高效液相色谱法 测定水中三唑类农药

张敏 黄其亮 殷帅 杨愿愿 杨晓云

华南农业大学资源环境学院/天然农药与化学生物学教育部重点实验室, 广州 510642

摘要 应用分散液相微萃取(DLLME)技术,建立水体中三唑醇(Triadimenol)、腈菌唑(Myclobutanil)、氟硅唑(Flusilazole)、戊唑醇(Tebuconazole)、己唑醇(Hexaconazole)、烯唑醇(Diniconazole)等6种三唑类农药的高效液相色谱(HPLC)分析方法,观察了萃取剂种类、萃取体积、萃取时间、涡旋速度、盐浓度和溶液pH值对萃取效率的影响,确定了最佳萃取条件:以100 μ L 1-丁基-3-甲基咪唑六氟磷酸盐(1-butyl-3-methylimidazolium hexafluorophosphate, [BMIM]PF₆)离子液体为萃取剂,在涡旋速度为2 500 r/min的条件下,对pH 4、NaCl质量分数为4%的5 mL水溶液涡旋萃取3 min。检测结果表明:6种三唑类农药在0.03~20.00 mg/L质量浓度范围内呈良好的线性关系,线性相关系数为0.999 6~0.999 9;检出限为0.002~0.006 mg/L(S/N=3);对自来水、湖水和稻田水的加标回收率为69.7%~101.0%,变异系数为2.7%~8.6%。

关键词 离子液体;分散液相微萃取;高效液相色谱法;三唑类农药

中图分类号 S 481⁺.8 **文献标识码** A **文章编号** 1000-2421(2012)03-0341-05

三唑类杀菌剂是含有1,2,4-三唑环的有机含氮杂环类化合物,除具内吸杀菌活性外,有些还具植物生长调节作用,并有广谱、高效、残效期和低毒等特点^[1]。目前,三唑类农药在蔬菜和水果中的施用量逐渐加大,因其残留引发的食品安全问题已越来越普遍,故此类农药在农产品中的残留检测也日益受到重视。

三唑类农药残留的主要检测方法有气相色谱法(GC)、高效液相色谱法(HPLC)、毛细管电泳法(CE)和其他各种联用技术^[2]。常用的前处理技术有液-液萃取、固相萃取、固相微萃取等^[3]。传统的液-液萃取前处理技术,需消耗大量有机溶剂且操作繁琐。固相微萃取的萃取头价格昂贵、易碎,使其应用受到限制^[4]。液相微萃取是在液-液萃取的基础上发展起来的一种前处理技术,具有消耗试剂少、简单、廉价等优点^[5]。液相微萃取的形式主要有3种,即液滴悬挂液相微萃取^[6]、中空纤维介入液相微萃取^[7]和分散液相微萃取^[8]。分散液相微萃取(dispersive liquid liquid micro extraction, DLLME)是由Rezaee等^[8]于2006年首次提出的一种新型样品

前处理技术,借助微量的分散剂促进萃取剂和样品溶液两相的混合与传质,形成乳浊液体系,然后离心分层。该方法具有操作简单、成本低廉和环境友好等优点^[9]。

离子液体作为一种新型绿色溶剂,具有无毒、低挥发和粘度大等优点,现已广泛应用^[10]。将疏水性的离子液体用作液相微萃取中的萃取溶剂,能克服传统有机溶剂易挥发和液滴悬挂不稳定等缺点,故已引起人们的关注^[11]。

笔者以1-丁基-3-甲基咪唑六氟磷酸盐([BMIM]PF₆)离子液体为分散相微萃取的萃取剂,直接用于水溶液中三唑醇、腈菌唑、氟硅唑、戊唑醇、己唑醇、烯唑醇等6种三唑类农药的萃取、富集,并与高效液相色谱法联用,获得了较好的检测效果。试验结果可为应用离子液体在水样和农产品中的残留检测时确定最佳萃取条件提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

Aglient 1100 高效液相色谱仪(含真空脱气机

收稿日期:2011-10-28

基金项目:国家自然科学基金项目(31071702)

张敏,硕士研究生。研究方向:农药残留分析和农药毒理环境。E-mail: kuailejiawen@126.com

通讯作者:杨晓云,博士,副教授。研究方向:农药残留分析和农药毒理环境。E-mail: yxyhyxy@scau.edu.cn

四元泵, DAD 检测器), Agilent 公司产品。

三唑醇、腈菌唑、氟硅唑、戊唑醇、己唑醇、烯唑醇标准品均由广东省农药检定所提供; 乙腈为 HPLC 级, 迪马公司产品; 其他试剂均为分析纯; 试验用水为超纯水。

1-丁基-3-甲基咪唑六氟磷酸盐([BMIM]PF₆)和 1-辛基-3-甲基咪唑六氟磷酸盐([OMIM]PF₆)为上海成捷化学有限公司产品。

1.2 色谱条件

色谱柱 Agilent TC-C18(150 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相为乙腈: 水=55:45(体积比); 检测波长 230 nm; 流速 1.0 mL/min; 柱温 30 ℃。

1.3 萃取过程

将一定量的离子液体移至 5 mL 尖底玻璃离心管中, 分别加入 5 mL 浓度为 1 mg/L 6 种农药的水溶液, 用涡旋振荡器振荡 3 min, 在冰水浴中冷却, 然后以 4 000 r/min 的转速离心 5 min, 使离子液体与水相分离, 离子液体相沉积到试管底部, 将上层水相移去, 加入 200 μL 甲醇, 振荡溶解, 吸到内衬管中进行液相色谱分析。

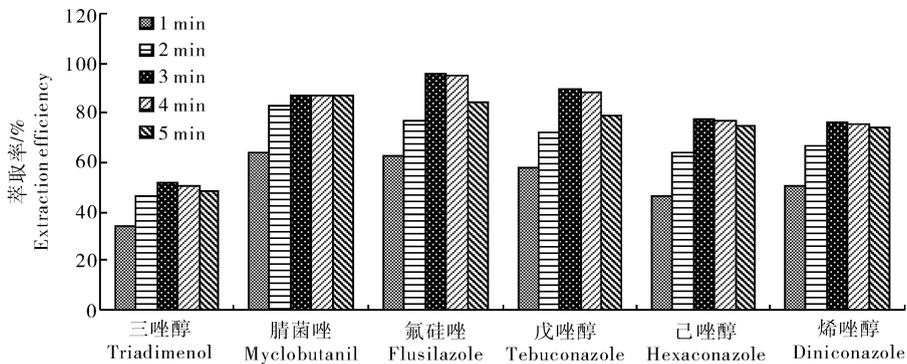


图 1 萃取时间对萃取效率的影响

Fig. 1 Effect of extraction time on extraction efficiency

2.3 涡旋速度对萃取效率的影响

涡旋振荡加速了分析物向离子液体萃取剂的扩散速度, 提高萃取效率, 但同时也会加快离子液体溶解在水溶液中。比较不同涡旋速度对萃取效率的影响, 发现涡旋振荡速度在 1 000~2 500 r/min 时, 萃取效率不断提高, 当涡旋振荡速度大于 2 500 r/min 时, 反而有降低的趋势(图 2), 所以本试验选择的涡旋振荡速度为 2 500 r/min。

2.4 盐浓度对萃取效率的影响

试验结果表明, 当 NaCl 质量分数在 1%~4% 时, 萃取效率随着盐浓度增大而增强; NaCl 质量分

2 结果与分析

2.1 萃取剂种类和体积的选择

合适的萃取剂是提高分析灵敏度的关键。本试验观察了 2 种离子液体([BMIM]PF₆、[OMIM]PF₆)和二氯甲烷、三氯甲烷 2 种常规有机溶剂对 6 种三唑类农药的萃取效果, 结果发现[BMIM]PF₆的萃取效率最高, 且干扰性小。

当萃取剂[BMIM]PF₆的用量为 60~100 μL 时, 萃取效率随着萃取剂的体积增大而提高; 当萃取剂的体积大于 100 μL 时, 萃取剂萃取效率反而下降。这是因为体积到达 100 μL 时离子液体液-液微萃取已经达到平衡, 萃取剂体积越大, 萃取效果越差, 所以本试验选择的萃取剂体积为 100 μL。

2.2 涡旋时间对萃取效率的影响

试验结果表明, 在 3 min 前萃取率随着时间增长而提高, 但 3 min 后萃取效率反而降低(图 1)。这是因为涡旋时间越长, 会加大离子液体[BMIM]PF₆在水溶液中的溶解, 所以本试验选择的萃取时间为 3 min。

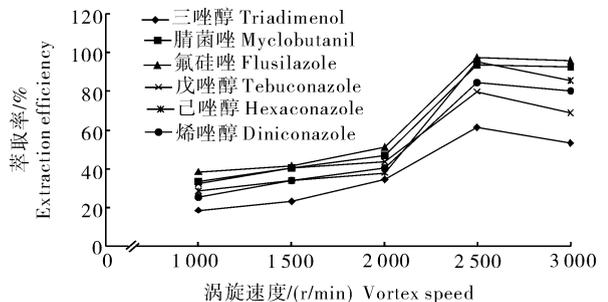


图 2 涡旋速度对萃取效率的影响

Fig. 2 Effect of vortex speed on extraction efficiency

数大于4%后,萃取效率反而降低(图3)。这可能是由于加入NaCl阻碍了离子液体的溶解,同时还有NaCl的强烈水合作用,导致水溶液中自由水分子的浓度显著降低,使三唑类农药在水相中的浓度相对增加,更易进入离子液体中,故萃取率会增高。但当NaCl的浓度达到一定时,离子液体[BMIM]PF₆会与盐中Cl⁻¹发生离子交换,形成[BMIM]PF₆Cl溶于水,萃取效率反而降低,所以选用水中含质量分数为4%的NaCl作为试验的最佳条件。

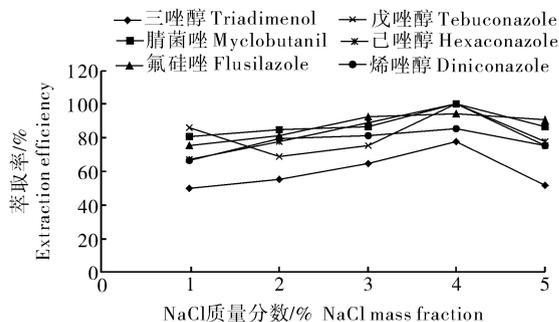


图3 盐浓度对萃取效率的影响

Fig. 3 Effect of NaCl concentration on extraction efficiency

2.5 pH值对萃取效率的影响

在pH 3~8范围内,观察了样品溶液pH值对萃取效率的影响。结果表明,在pH 4时,离子液体[BMIM]PF₆对三唑类农药的萃取效率最高(图4)。这可能是因为,在pH 4时,三唑类农药以分子形式存在,更易进入离子液体[BMIM]PF₆,因而萃取效果最好,所以选择样品溶液pH 4作为试验的最佳条件。

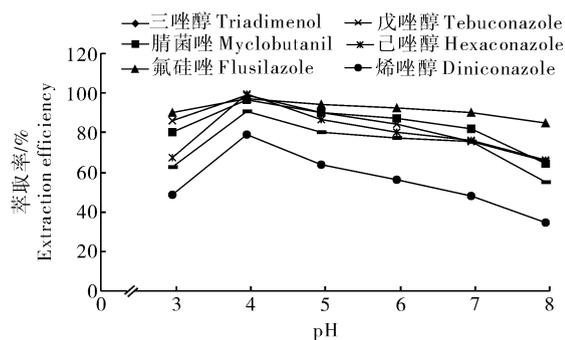


图4 溶液pH值对萃取效率影响

Fig. 4 Effect of pH value of solution on extraction efficiency

2.6 冰水浴对萃取效率的影响

在其他试验条件一致的情况下,本试验观察了样品溶液在涡旋振荡萃取后用冰水浴处理和不做任何处理的差异。结果表明,在冰水浴处理的条件下,离子液体对6种三唑类农药的萃取效率明显较高。这是因为涡旋振荡后,有一部分离子液体溶于样品溶液中,冰水浴降温后,有利于溶解的离子液体重新形成离子液体小液滴,减少了消耗,使得用冰水浴处理后萃取效果好,所以选择萃取后用冰水浴处理作为试验最佳条件。

2.7 水中三唑类农药的检出限

以甲醇为溶剂配制6种三唑类农药的标准溶液,在最佳色谱条件下检测其混合标准溶液,获得了6种三唑类农药的线性回归方程、相关系数和线性范围,并得到了分散液相微萃取与高效液相色谱结合后方法的检出限为0.002~0.006 mg/L(表1)和其标准色谱图(图5)。

表1 6种三唑类农药的线性方程、相关系数、线性范围和检出限

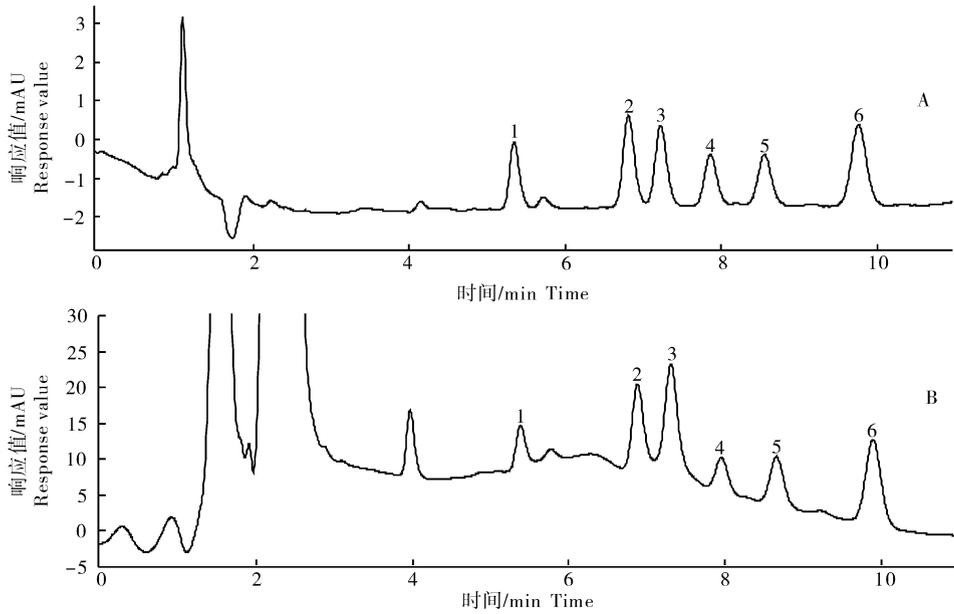
Table 1 Linear ranges, linear regression equation, correlation coefficients and detection limits of the six triazole pesticides

三唑类农药 Triazole pesticides	线性方程 Linear equation	相关系数 Related coefficient	线性范围/(mg/L) Linear range	检出限/(mg/L) Detection limit
三唑醇 Triadimenol	$A = 11.25c + 0.34$	0.9997	0.05~20.00	0.003
腈菌唑 Myclobutanil	$A = 10.67c + 0.29$	0.9998	0.05~20.00	0.003
氟硅唑 Flusilazole	$A = 10.86c - 0.18$	0.9998	0.05~20.00	0.003
戊唑醇 Tebuconazole	$A = 6.69c + 0.38$	0.9996	0.10~20.00	0.006
己唑醇 Hexaconazole	$A = 9.00c - 0.35$	0.9999	0.08~20.00	0.005
烯唑醇 Diniconazole	$A = 17.24c - 0.59$	0.9998	0.03~20.00	0.002

2.8 样品分析及加标回收率

对自来水、湖水和稻田水分别用0.45 μm滤膜过滤后,在最佳试验条件(以100 μL 1-丁基-3-甲基咪唑六氟磷酸盐离子液体为萃取剂,在涡旋速度为2500 r/min时,对pH 4、NaCl质量分数为4%的

5 mL水溶液涡旋萃取3 min)下进行测定。结果表明,水体中三唑醇、腈菌唑、氟硅唑、戊唑醇、己唑醇、烯唑醇等6种三唑类农药的浓度均低于本试验方法的检出限。6种三唑类农药的加标回收率为69.7%~101.0%,变异系数为2.7%~8.6%(表2)。



A: 1 mg/L 标准溶液的色谱 Typical chromatograms of 1 mg/L standard solution; B: 最佳条件下, [BMIM]PF₆ 离子液体萃取 1 mg/L 标准溶液的色谱 Chromatogram obtained after [BMIM]PF₆ extraction of sample solution contained 1 mg/L mixed standard under the optimized conditions; 1. 三唑醇 Triadimenol; 2. 腈菌唑 Myclobutanil; 3. 氟硅唑 Flusilazole; 4. 戊唑醇 Tebuconazole; 5. 己唑醇 Hexaconazole; 6. 烯唑醇 Diniconazole.

图 5 6 种三唑类农药的色谱图

Fig. 5 Chromatograms of six triazole pesticides

表 2 6 种三唑类农药在水样中的加标回收率

Table 2 Spiked recoveries of the six triazole pesticides in water samples

三唑类农药 Triazole pesticides	加标量/(mg/L) Spiked	自来水 Tap water		湖水 Lake water		稻田水 Paddy water	
		回收率 Recovery	变异系数 Coefficient of variation	回收率 Recovery	变异系数 Coefficient of variation	回收率 Recovery	变异系数 Coefficient of variation
三唑醇 Triadimenol	0.05	69.7	6.6	70.1	8.2	72.3	7.8
	0.10	72.3	4.7	73.1	5.1	76.2	5.6
	1.00	75.5	3.3	75.8	3.9	78.3	4.1
腈菌唑 Myclobutanil	0.05	93.2	5.2	86.5	6.5	89.3	7.3
	0.10	93.8	3.8	90.6	4.6	92.7	6.6
	1.00	94.1	2.7	91.7	4.8	93.5	3.4
氟硅唑 Flusilazole	0.05	97.5	6.2	94.8	5.9	92.6	6.9
	0.10	97.2	3.6	98.6	4.8	93.7	6.2
	1.00	101.0	3.8	98.7	4.2	95.2	4.6
戊唑醇 Tebuconazole	0.05	91.3	5.7	90.5	8.2	91.1	4.8
	0.10	95.2	6.2	90.7	6.6	90.6	5.6
	1.00	97.8	3.4	93.4	5.7	92.0	3.9
己唑醇 Hexaconazole	0.05	85.1	5.9	86.5	7.5	89.4	6.7
	0.10	87.0	4.6	90.4	5.3	92.1	6.1
	1.00	90.3	2.9	91.1	5.8	92.5	4.3
烯唑醇 Diniconazole	0.05	82.6	7.1	80.9	7.2	85.5	8.6
	0.10	80.9	3.9	81.1	6.4	84.2	3.9
	1.00	81.3	4.2	84.6	5.2	87.4	5.2

3 讨论

本试验以疏水性离子液体 1-丁基-3-甲基咪唑六氟磷酸盐([BMIM]PF₆)作萃取剂,从水溶液中富集三唑类农药。试验结果表明,该方法的回收率较

高,非常适合于低浓度物质的富集检测。这主要是因为离子液体在水介质中的溶解度相对较小,而且离子液体的粘度较大,离心后上层水相易移除,同时离子液体和 HPLC 的流动相兼容,可以直接进入 HPLC 系统进行分离分析,因此可得到较好的效果。

由于离子液体的可设计性,在实际的应用过程中,可以根据目标化合物性质的不同,设计合成不同种类的离子液体,使富集因子和选择性都得以改善。同时,该方法还能有效解决单滴液相微萃取中液滴悬挂不稳的问题,从而提高操作的稳定性。另外,该方法快速简便、灵敏度高,且符合绿色和环境友好的要求,不会产生二次污染,在分析检测痕量污染物中有良好的应用前景。

参 考 文 献

- [1] 张一宾. 全球三唑类杀菌剂的市场、品种、特点及发展[J]. 中国农药, 2010(12):11-13.
- [2] 李琳, 张玉涛, 张进忠, 等. 三唑类农药残留研究进展[J]. 安徽农业科学, 2008, 36(22):9704-9707.
- [3] 葛娜, 刘晓茂, 李学民, 等. 气相色谱-质谱法测定蔬菜与水果中11种三唑类农药残留[J]. 分析测试学报, 2011(12):1351-1355.
- [4] 李星星, 汪路路, 孙福生. 基于离子液体的单滴液相微萃取-高效液相色谱法测定水中杀螨隆农药残留[J]. 分析实验室, 2011, 30(3):73-76.
- [5] 吴翠琴, 陈迪云, 周爱菊, 等. 离子液体单滴微萃取-高效液相色谱法测定水中磺胺类药物[J]. 分析化学, 2011, 39(1):17-21.
- [6] HE Y, KANG Y J. Single drop liquid-liquid-liquid microextraction of methamphetamine and amphetamine in urine [J]. J Chromatogr A, 2006, 1133(1/2):35-40.
- [7] LIU M H, QIU B, CHEN X, et al. Determination of estrogens in waste water using three-phase hollow fiber-mediated liquid-phase microextraction followed by HPLC [J]. J Sep Sci, 2008, 31(4):622-628.
- [8] REZAEE M, ASSADI Y, MILANI-HOSSEINI M R, et al. Determination of organic compounds in water using dispersive liquid-liquid microextraction [J]. J Chromatogr A, 2006, 1116(1/2):1-9.
- [9] 曾延波, 赵弟海, 李蕾, 等. 吡啶离子液体双水相-高效液相色谱法同时测定牛奶中3种喹诺酮类药物残留[J]. 高等学校化学学报, 2009(10):1956-1959.
- [10] 谢洪学, 何丽君, 伍艳, 等. 基于离子液体的液相微萃取-高效液相色谱法测定水中有机磷农药[J]. 分析化学, 2007, 35(2):187-190.
- [11] 施跃锦, 蔡美强, 金米聪. 超声辅助离子液体顶空液相微萃取-气相色谱-质谱法测定水中多氯联苯[J]. 理化检验, 2011, 47:629-632.

Determination of triazole pesticides in water samples by using ionic liquid-based dispersive liquid-liquid microextraction coupled with high performance liquid chromatography

ZHANG Min HUANG Qi-liang YIN Shuai YANG Yuan-yuan YANG Xiao-yun
*College of Natural Resources and Environment, South China Agricultural University/
Key Laboratory of Nature Pesticide and Chemical Biology, Ministry of Education,
Guangzhou 510642, China*

Abstract A novel method was developed for the determination of six triazole pesticides in water samples by using ionic liquid-based dispersive liquid-liquid microextraction coupled with high performance liquid chromatography. The influence of extraction parameters including types of extraction solvent, volume of extraction solvent, extraction time, vortexing speed, NaCl concentration, pH value of sample solution were investigated. Using 100 μ L 1-butyl-3-methylimidazolium hexafluorophosphate ([BMIM]PF₆) as extraction drop, 5 mL aqueous sample with 4% NaCl (pH 4) was extracted for 3 min with vortexing at 2 500 r/min. Under the optimal conditions, good linear relationships were obtained in the six triazole pesticides concentrations of 0.03-20.00 mg/L with the correlation coefficients of 0.999 6-0.999 9; the detection limits were 0.002-0.006 mg/L (S/N=3). The proposed method was applied to the determination of six triazole pesticides in tap, lake and paddy water with a recovery rate of 69.7%-101.0%, the coefficient of variation is in a range 2.7%-8.6%.

Key words ionic liquid; dispersive liquid-liquid microextraction; high performance liquid chromatography; triazole pesticides