

# 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

游明华, 孙广大, 陈 猛, 袁东星

(厦门大学环境科学研究中心, 福建 厦门 361005)

摘要: 应用 C<sub>18</sub>柱萃取富集, NH<sub>2</sub>柱净化, 气相色谱-质谱联用技术检测, 建立了环境水样中 9种三唑类农药同时分析的方法。9种目标农药在 0.025~0.500 mg/L质量浓度范围内线性关系良好, 方法的检出限为 0.002~0.009 μg/L。以实际水样为基底, 加标质量浓度为 0.025 μg/L和 0.100 μg/L时, 9种目标农药的基底加标回收率和相对标准偏差 (n=3)分别为 68.4%~113.9%, 1.6%~6.9% (河水)和 70.3%~115.2%, 0.8%~8.2% (海水)。该方法操作简单、灵敏度高、选择性好, 符合多种农药残留分析的要求, 并成功地应用于福建九龙江河口区表层水样中三唑类农药的残留状况调查。

关键词: 气相色谱-质谱; 固相萃取; 三唑类农药; 环境水样

中图分类号: O658 文献标识码: A 文章编号: 1000-8713(2008)06-0704-05 栏目类别: 研究论文

## Determination of nine triazole pesticides in environmental waters using solid phase extraction and gas chromatography-mass spectrometry

YOU Minghua, SUN Guangda, CHEN Meng, YUAN Dongxing

(Environmental Science Research Center, Xiamen University, Xiamen 361005, China)

Abstract: A method was developed for the simultaneous determination of 9 triazole pesticides in environmental water using C<sub>18</sub> cartridge for the extraction and enrichment, NH<sub>2</sub> cartridge for the clean up and gas chromatography-mass spectrometry for the detection. The linear range of calibration curves for the 9 target pesticides was between 0.025 mg/L and 0.500 mg/L. The detection limits were in the range of 0.002~0.009 μg/L. The 9 target pesticides were measured in river water and sea water at 0.025 μg/L and 0.100 μg/L spiking levels. Recoveries and relative standard deviations (RSD, n=3) were 68.4%~113.9% and 1.6%~6.9% for river water and 70.3%~115.2% and 0.8%~8.2% for sea water, respectively. The method is simple, sensitive, selective and suitable for the qualification of pesticide multiple residue analysis. It has been successfully applied to the survey of 9 triazole pesticide residues in Jiulong River Estuary, Fujian.

Key words: gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS); solid phase extraction (SPE); triazole pesticides; environment waters

三唑类农药是杀菌剂中使用量最大的一类农药,也是近年来农药销售增长较快的农药品种<sup>[1]</sup>。大量的三唑类农药施用后通过沉降和地表径流等多种途径进入环境水体,可能危害水生生物,影响水生生态系统<sup>[2,3]</sup>,因而有必要建立一种灵敏、准确、快速的分析方法,为该类药物在水环境中的行为和生态效应研究提供检测手段。

在水样中三唑类农药的检测方法研究方面, Liu

等<sup>[4]</sup>利用单液滴微萃取 (SDME)、气相色谱-电子捕获检测器 (GC-ECD)建立了水样和酒样中烯唑醇等 4种三唑类农药的分析方法; Schemerhorn等<sup>[5]</sup>利用 C<sub>18</sub>柱萃取、阳离子和阴离子混合固相萃取柱净化、液相色谱-串联质谱 (LC-MS/MS)检测,建立了水源水和自来水中 14种三唑类农药及其 8种代谢产物的痕量分析方法; Vazquez等<sup>[6]</sup>利用大体积进样、双柱液相色谱-紫外可见检测器 (LC/LC-UV)

收稿日期: 2008-04-10

第一作者: 游明华, 硕士研究生, Tel: (0592)2184860 E-mail: xiaoyaoyouug@163.com

通讯联系人: 陈 猛, 副教授, Tel: (0592)2183127 E-mail: mengchen@xmu.edu.cn

基金项目: 福建省自然科学基金项目 (20050140)

分析了地下水中的三唑酮和氟醚唑; 楼小华等<sup>[7]</sup>利用液液萃取 (LLE)、气相色谱 氮磷检测器 (GC-NPD) 建立了稻田水中多效唑的分析方法, 然而海水中三唑类农药的检测方法目前尚未见报道。本研究选择中国目前大量使用的 9 种三唑类农药三唑酮、多效唑、己唑醇、烯效唑、腈菌唑、氟硅唑、丙环唑、戊唑醇、苯醚甲环唑, 利用 C<sub>18</sub> 固相萃取柱富集, NH<sub>3</sub> 柱净化, 气相色谱 质谱联用 (GC-MS) 检测, 建立了淡水和海水中这些农药的高灵敏的同时分析方法, 并应用于福建九龙江河口区表层水样中三唑类农药的残留状况调查。

## 1 实验方法

### 1.1 药品与试剂

农药标准品三唑酮 (triazinofen, 纯度 99.8%), 多效唑 (paclobutrazol, 纯度 99.7%), 己唑醇 (hexaconazole, 纯度 97.5%), 烯效唑 (uniconazole, 纯度 99.5%), 腈菌唑 (myclobutanil, 纯度 98.5%), 氟硅唑 (flusilazole, 纯度 99.3%), 丙环唑 (propiconazole, 纯度 97.5%), 戊唑醇 (tebuconazole, 纯度 99%), 苯醚甲环唑 (difenoconazole, 纯度 99.3%), 硅氟唑 (simeconazole, 纯度 94%) 和环丙唑醇 (ciproconazole, 纯度 99%) 均购自德国奥格斯堡公司 (Dr. Ehrenstorfer GmbH, Germany), 其中国内尚未生产和使用的硅氟唑和环丙唑醇分别作为内标物和替代物; 无水硫酸钠 (分析纯) 购于国药集团化学试剂有限公司, 使用前在 450 °C 下活化 4 h。

溶剂甲醇、乙酸乙酯、正己烷、丙酮均为色谱纯 (Tedea USA), 实验用水为超纯水 (厦门锐思捷科学仪器有限公司)。

分别称取 25.0 mg 各农药标准品, 用丙酮溶解并定容于 50 mL 棕色容量瓶中, 配制成 500 mg/L 的单标储备液; 分别移取 500 μL 各单标储备液, 用丙酮定容于 50 mL 棕色容量瓶中, 配制成质量浓度均为 5.0 mg/L 的混合标准溶液, 保存于 -4 °C 冰箱中备用。

### 1.2 仪器与设备

Agilent 5975 B GC-MS 仪及 7683 自动进样器 (美国 Agilent 公司), HP-5MS 色谱柱 (30 m × 0.25 mm × 0.25 μm) (美国 Agilent 公司), VisiPrep<sup>TM</sup> DL12 孔固相萃取装置 (美国 Supelco 公司), GM-0.33 型真空泵和砂芯漏斗 (天津津腾实验设备有限公司); 直径 47 mm 孔径 0.45 μm 的水相滤膜 (天津津腾实验设备有限公司); 固相萃取柱为 500 mg/6 mL, 1 g/6 mL 的 Bondesil-C<sub>18</sub> 柱和 500

mg/6 mL 的 Bondesil-NH<sub>2</sub> 柱 (美国 Varian 公司)。

### 1.3 样品预处理方法

取 1.0 L 水样, 加入 5 mg/L 的环丙唑醇 50 μL 作为替代物, 通过 0.45 μm 水相滤膜过滤后, 以 4~6 mL/min 的流速通过 C<sub>18</sub> 柱 (萃取前依次用 10 mL 乙酸乙酯、3 mL 甲醇、10 mL 超纯水淋洗); 上样完毕后, 抽干 C<sub>18</sub> 柱中的残留水分, 用 15 mL 乙酸乙酯在常压下洗脱目标物, 洗脱液用氮气吹至近干, 然后用 9 mL 丙酮 正己烷 (体积比为 1:1) 溶解后分 3 次转移目标物, 常压下通过 NH<sub>3</sub> 柱 (预先用 10 mL 丙酮 正己烷 (体积比为 1:1) 淋洗) 进行净化, 柱后液用氮气吹至近干, 加入 5 mg/L 的硅氟唑 50 μL 作为内标物, 用丙酮 正己烷 (体积比为 1:1) 定容至 0.5 mL 备用。

## 2 结果与讨论

### 2.1 GC-MS 条件的优化

为兼顾分离度和分析效率, 优化了气相色谱和质谱条件。

色谱条件: 载气为高纯 He, 恒流模式, 流速为 1.0 mL/min, 进样口温度 260 °C, 不分流进样, 进样量 2.0 μL, 升温程序: 初始温度 70 °C, 保持 1.0 min, 先以 25 °C/min 速度升至 170 °C, 再以 2 °C/min 速度升至 190 °C, 保持 10.0 min, 最后以 20 °C/min 速度升至 280 °C, 保持 9.5 min, 再在 300 °C 下保持 5 min。

质谱条件: 电子轰击电离源 (EI), 离子源温度 230 °C, 四极杆质量分析器温度 150 °C, 选择离子监测模式 (SM), 特征离子见表 1, 溶剂延迟 9.0 min, 9 种目标农药的选择性离子监测谱图见图 1。

表 1 9 种目标农药的特征离子  
Table 1 Characteristic ions of 9 target Pesticides

No.	Pesticide	Characteristic ions
1	triazinofen	208*, 57 128
2	paclobutrazol	236*, 125 167
3	hexaconazole	214*, 83 175
4	uniconazole	234*, 70 236
5	myclobutanil	179*, 150 206
6	flusilazole	233*, 206 234
7	propiconazole	173*, 259 191
8	tebuconazole	125*, 250 83
9	difenoconazole	323*, 265 267

\* Quantitative ion

### 2.2 固相萃取条件的优化

对水样中农药进行固相萃取 (SPE) 时, SPE 柱的类型、上样速度、洗脱条件、水样的 pH 和盐度等都会影响萃取效率。本实验采用内标定量方法分别对这些参数进行了考察和优化。

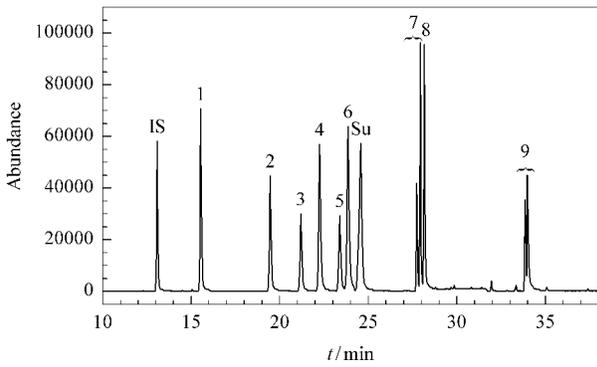


图 1 9 种目标农药、内标物和替代物 (各 0.5 mg/L) 的选择性离子监测的总离子流色谱图

Fig 1 SIM chromatogram of 9 triazole pesticides, internal standard and surrogate (0.5 mg/L each)

1 triadimefon 2 paclobutrazol 3 hexaconazole 4 uniconazole 5 myclobutanil 6 flusilazox 7 propiconazole 8 tebuconazole 9 difenoconazole IS smeconazole Su cyproconazole

2.2.1 SPE柱的选择和穿透体积

目前常用于水样中农药残留分析的 SPE柱主要有 C18柱和 HILB柱, 本实验选择了 C18柱。SPE柱对目标物的富集能力的参考指标是穿透体积。穿透体积越大, 萃取柱对目标物的富集能力越强。本实验取 0.5 1.0 1.5 和 2.0 L 超纯水, 分别加入 50 μL 质量浓度为 5 mg/L 的混合标样和 50 μL 质量浓度为 5 mg/L 的环丙唑醇, 按“1.3”节所述方法进行固相萃取, 分别考察了 500 mg/6 mL 和 1 g/6 mL 两种规格的 C18柱对水样的穿透体积。结果发现, 在 500 mg/6 mL 的 C18柱上, 不同体积水样的回收率为 78.5%~98.4% 相对标准偏差 (RSD) 为 2.0%~13.8% 而 1 g/6 mL 的 C18柱的回收率为 82.9%~102.3% RSD 为 0.3%~10.7%。随着水样体积的加大, 两种 C18柱的回收率均随之下降, RSD 也随

之增大, 但是 1 g/6 mL C18柱的回收率和 RSD 明显优于 500 mg/6 mL 的 C18柱。综合考虑方法的灵敏度、重现性和实际水样的基底干扰, 本实验最终选择 1 g/6 mL 的 C18柱为萃取柱, 过柱水样体积为 1.0 L

2.2.2 上样速度与目标物洗脱条件的优化

用正交试验设计考察了上样速度、洗脱溶剂性质、洗脱溶剂体积和洗脱速度对加标回收率的影响<sup>[8]</sup>。正交试验设计及试验结果见表 2 表 3 和表 4。从极差分析结果可以看出, 洗脱溶剂性质对目标物的回收率影响最大, 对洗脱体积的影响最小。在所选的 3 种洗脱溶剂中, 正己烷在设定的洗脱体积下不能洗脱目标农药; 丙酮的洗脱能力略强于乙酸乙酯, 但当洗脱体积增加至 15 mL 时, 两者的洗脱效果相当。综合考虑洗脱效果、可能引入的杂质以及环境友好性, 本实验选择 15 mL 乙酸乙酯作为洗脱溶剂。上样速度和洗脱流速对目标物的加标回收率影响较小, 为了提高实验效率和方便操作, 本实验选择的上样速度为 6.0 mL/min 洗脱速度为 3.0~4.0 mL/min

表 2 正交试验设计 Table 2 Design of orthogonal experiments

No.	Loading rate/ (mL/min)	Elution solvent	Elution volume/mL	Elution rate/ (mL/min)
1	2.0	acetone	5.0	2.0
2	2.0	ethyl acetate	10.0	4.0
3	2.0	n-hexane	15.0	6.0
4	4.0	acetone	15.0	4.0
5	4.0	ethyl acetate	5.0	6.0
6	4.0	n-hexane	10.0	2.0
7	6.0	acetone	10.0	6.0
8	6.0	ethyl acetate	15.0	2.0
9	6.0	n-hexane	5.0	4.0

表 3 正交试验的回收率结果 Table 3 Recoveries of orthogonal experiments

No.	Triadimefon	Paclobutrazol	Hexaconazole	Uniconazole	Myclobutanil	Flusilazox	Propiconazo	Tebuconazo	Difenoconazo	%
1	96.1	108.3	96.3	104.3	102.8	80.1	109.8	118.8	102.7	
2	85.5	68.7	70.3	68.8	81.5	71.9	86.3	76.1	58.3	
3	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	
4	86.3	91.5	89.2	91.4	95.9	83.2	103.4	100.7	81.7	
5	79.2	76.9	72.5	74.6	80.7	68.2	89.6	83.0	66.1	
6	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	
7	97.7	110.5	99.1	105.4	103.7	82.8	105.4	112.0	101.1	
8	97.2	99.2	95.9	97.0	97.5	89.8	98.1	102.2	93.3	
9	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	

Note: spiked concentration of each target analyte in water was 0.25 μg/L.

2.2.3 水样 PH值和盐度对固相萃取的影响

自然水体的 PH值在 6.0~9.0 之间。本实验以超纯水为基底, 用 0.1 mol/L 氢氧化钠溶液和

0.1 mol/L 盐酸溶液分别将水样的 PH值调整为 6.0 7.0 8.0 和 9.0 然后加入 50 μL 质量浓度为 5 mg/L 的混合标准溶液, 按“1.3”节所述方法处

表 4 正交试验极差分析结果

Table 4 Range analysis of orthogonal experiment results

Pesticide	Range			
	padding rate	elution solvent	elution volume	elution rate
Triadimefon	9.8	93.4	2.7	7.2
Paclobutrazol	13.7	103.4	3.8	15.7
Hexaconazole	11.1	94.9	5.4	10.9
Uniconazole	12.1	100.4	4.7	13.7
Myclobutanil	8.2	100.8	3.3	7.6
Flusilazole	7.1	82.0	8.2	6.3
Propiconazole	3.5	106.2	3.3	6.1
Tebuconazole	10.2	110.5	4.9	14.7
Difenoconazole	15.5	95.1	5.2	18.7

理, 考察水样的 pH 值对回收率的影响。结果表明, 不同 pH 值下, 目标物的加标回收率均在 65.9%~110.8% 之间, 且同一目标物在不同 pH 值下的回收率无显著差异, 故本方法在进行样品预处理前不对水样的 pH 值进行调整。

自然水体的盐度一般在 0~35 之间, 盐度的不同使水体的离子强度存在差异, 增大离子强度可以提高正辛醇-水分配系数 ( $K_{ow}$ ) 小的化合物的萃取回收率<sup>[9-10]</sup>。本实验依据《海洋监测规范》<sup>[11]</sup>, 使用氯化钠和七水硫酸镁配制盐度分别为 0、10、20、30 和 40 的人工海水, 加入 50  $\mu$ L 质量浓度为 5 mg/L 的混合标准溶液, 按“1.3”节所述方法处理, 考察了盐度对萃取回收率的影响。结果表明, 不同盐度下目标物的加标回收率均为 67.9%~117.4%, 且同一目标物在不同盐度下的回收率无显著差异, 故本方法在水样预处理前不对水样的盐度进行调整。

#### 2.2.4 洗脱液的净化

由于 C<sub>18</sub> 柱能够富集的化合物较多, 并且环境水样中的干扰物质众多, 因此萃取后的洗脱液必须进一步净化, 以除去共萃物, 降低对检测器的玷污程度, 保证检测的灵敏度和稳定性。本实验选用 NH<sub>2</sub> 柱对固相萃取洗脱液进行净化。

#### 2.3 工作曲线的线性范围和方法的检出限

在优化的仪器条件下, 对目标物质量浓度为 0.025、0.050、0.100、0.200 和 0.500 mg/L 的混合标准溶液进行检测, 发现各目标化合物在 0.025~0.500 mg/L 范围内定量离子的响应与质量浓度呈现良好的线性关系 (见表 5)。以仪器信噪比 (S/N) 为 5 时所对应的标准溶液浓度为仪器检出限, 根据前处理方法的浓缩倍数 (2 000 倍) 计算方法的检出限 (MDL) 结果见表 5。

#### 2.4 分析过程的质量控制和基底加标回收率

本实验采用内标法和替代物法进行样品分析过程的质量控制。内标物在样品预处理后加入, 用于

监控基底效应对仪器分析的影响; 替代物在样品预处理前加入, 历经整个分析过程, 通过其回收率的情况来判断整个分析过程的可靠性; 定量方法见文献 [12]。通常, 要求样品中不含有替代物, 且替代物与目标物的物理化学性质相似, 才能对目标物起良好的替代指示作用, 达到质量控制的目的。

表 5 标准工作曲线和检出限

Table 5 Calibration curves and detection limits

Pesticide No <sup>1)</sup>	Linear equation <sup>2)</sup>	r	MDL ( $\mu$ g/L)
1	$Y=0.691X-0.0347$	0.998	0.007
2	$Y=1.14X-0.0722$	0.994	0.004
3	$Y=0.878X-0.0655$	0.996	0.005
4	$Y=2.28X-0.156$	0.993	0.005
5	$Y=X-0.0766$	0.997	0.002
6	$Y=2.84X-0.187$	0.994	0.003
7	$Y=0.323X-0.0184$	0.993	0.009
8	$Y=0.673X-0.0501$	0.992	0.004
9	$Y=0.355X-0.0276$	0.994	0.002

1) For Pesticide see Table 1. 2) Y: Peak area ratio of analyte versus the internal standard; X: concentration of analyte mg/L.

本方法分别选用中国尚未生产和使用的环丙唑醇和硅氟唑作为替代物和内标物, 以九龙江河口水和厦门近岸海水为基底, 进行了 0.025  $\mu$ g/L 和 0.1  $\mu$ g/L 两个水平的基底加标回收率实验, 分别用内标法和替代物法进行计算, 验证方法的可靠性, 其中替代物法的计算结果列于表 6。可以看出: (1) 替代物自身的回收率在 60%~80% 之间, 符合 40%~120% 的范围要求<sup>[12]</sup>, 并且与目标物的回收率相近; (2) 使用替代物法定量, 河水样品加标回收率在 68.4%~113.9% 之间, 相对标准偏差在 1.6%~7.1% 之间;

表 6 实际水样的基底加标回收率 (n=3)

Table 6 Spiked recoveries of target analytes in actual water samples (n=3)

Pesticide	Spiked level ( $\mu$ g/L)	Recoveries (RSD) %	
		river water	sea water
Triadimefon	0.025	109.0 (1.9)	83.4 (1.1)
	0.100	109.7 (2.7)	96.3 (2.2)
Paclobutrazol	0.025	80.3 (5.4)	82.3 (1.9)
	0.100	113.9 (2.9)	115.2 (2.0)
Hexaconazole	0.025	77.7 (4.3)	77.8 (6.3)
	0.100	104.2 (2.0)	104.2 (2.6)
Uniconazole	0.025	79.3 (4.9)	82.9 (3.5)
	0.100	109.0 (1.6)	113.8 (1.9)
Myclobutanil	0.025	83.3 (6.7)	81.5 (5.0)
	0.100	106.0 (1.6)	106.6 (1.3)
Flusilazole	0.025	76.8 (4.4)	74.3 (0.8)
	0.100	101.0 (2.2)	102.7 (1.0)
Propiconazol	0.025	96.4 (7.1)	99.6 (6.6)
	0.100	109.1 (3.7)	112.8 (8.2)
Tebuconazole	0.025	68.4 (6.9)	70.3 (2.5)
	0.100	97.0 (6.6)	103.6 (5.6)
Difenoconazole	0.025	74.1 (6.1)	80.2 (2.7)
	0.100	93.1 (6.2)	104.8 (1.7)

海水样品加标回收率在 70.3%~115.2% 相对标准偏差在 1.0%~8.2% 之间。结果证明, 环丙唑醇作为本方法的替代物是可行的, 所建立的方法完全满足表层水中痕量农药残留的检测要求。

### 2.5 实际样品分析

应用所建立的水中三唑类农药的分析方法, 于 2008 年 1 月调查了福建九龙江下游入海口 16 个站位表层水中 9 种三唑类农药的污染状况, 结果检出多效唑、丙环唑、腈菌唑、氟硅唑、苯醚甲环唑。其中有 13 个站位检出丙环唑, 其质量浓度在 22.5~47.9 ng/L 之间; 9 个站位检出多效唑, 其质量浓度在 4.7~52.1 ng/L 之间; 7 个站位检出腈菌唑, 其质量浓度在 2.8~29.2 ng/L 之间; 氟硅唑和苯醚甲环唑都只在一个站位被检出, 其质量浓度分别为 22.9 ng/L 和 5.7 ng/L。由于采样时间是在九龙江枯水期, 且是农药用量较少的季节, 预计在丰水期(也是农药使用的高峰期)时, 河水中三唑类农药的检出范围可能会更广, 浓度也可能会更高。

### 3 结论

本方法将 SPE 与 GC/MS 技术结合, 采用替代物法进行定量分析和质量控制, 建立了环境水体中 9 种三唑类农药的高灵敏度的同时分析方法, 并成功地方法应用于福建九龙江河口水样中三唑类农

药的残留状况调查, 结果提示水环境中三唑类农药的污染状况值得关注和研究。

### 参考文献:

- [1] Zhang Y B. China Agrochemicals (张一宾. 中国农药), 2006 (4): 13
- [2] Xiong Y, Wan L J. Journal of Nanchang University: Natural Science (熊艳, 万丽娟. 南昌大学学报: 理科版), 2005 29 (5): 493
- [3] Yang G, Zhang X Q, Qian Z N, et al. Modern Agrochemicals (杨赓, 张晓强, 钱忠宁. 现代农药), 2003 2(3): 22
- [4] Liu Y, Zhao E C, Zhou Z Q. Anal Lett 2006 39(11): 2333
- [5] Schemenon P G, Golden P E, Krýnitsky A J, et al. J AOAC Int 2005 88(5): 1491
- [6] Vazquez P P, Vidal J L M, Fernandez J M. Analyst 2000 125(9): 1549
- [7] Lou X H, Liang T X. Pesticides (楼小华, 梁天锡. 农药), 1990 29(1): 31
- [8] Ren L P, Tian Q, Liu F M, et al. Journal of China Agricultural University (任丽萍, 田芹, 刘丰茂, 等. 中国农业大学学报), 2004 9(2): 93
- [9] Carabias Martínez R, Rodríguez González E, Herrero-Hernández E, et al. J Chromatogr A 2002 950: 157
- [10] Lord H, Pawliszyn J. J Chromatogr A 2000 902: 17
- [11] State Oceanic Administration People's Republic of China. Specification of oceanographic survey. Beijing: Ocean Press (国家海洋局. 海洋监测规范. 北京: 海洋出版社), 1991: 179
- [12] Li Q L, Yuan D X, Chen M. Marine Environmental Science (李权龙, 袁东星, 陈猛. 海洋环境科学), 2002 21(4): 46