

固相萃取法用于菠菜中苯醚甲环唑残留量的测定

1 前言

苯醚甲环唑是一种广谱高效的杀菌剂，主要抑制病菌细胞麦角甾醇的生物合成，从而破坏细胞膜结构与功能。主要用于果树，蔬菜，瓜类等作物，对蔬菜和瓜果等多种真菌性病害具有很好的保护和治疗作用，是三唑类杀菌剂中安全性比较高的。叶面处理或种子处理都可提高作物的产量和保证品质。蔬菜瓜果作为人们日常饮食健康的摄入物质，其药物残留量的多少显得至关重要。本文用 SPE400 全自动机械臂固相萃取仪对菠菜中苯醚甲环唑残留量的整个检测过程中的净化环节进行了实验。

2 仪器与试剂

2.1 仪器

SPE400 全自动机械臂固相萃取仪、气相色谱-质谱仪、组织捣碎机、离心机、旋转蒸发仪、振荡器

2.2 试剂及耗材

乙酸乙酯、丙酮、正己烷、无水硫酸钠、活性炭固相萃取小柱（3ml，填充物 250mg）、中性氧化铝固相萃取小柱（3ml，填充物 250mg）

正己烷-丙酮（3+2）溶液：取 300 mL 正己烷，加入 200 mL 丙酮，摇匀备用。

3 实验方法

3.1 实验步骤

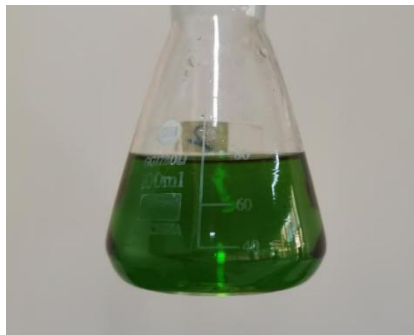
3.1.1 取样

菠菜样品用组织捣碎机加工成浆状，混匀备用。



3.1.2 提取

准确称取 10g 均匀试样(精确至 0.01g)于 100mL 锥形瓶中，加入 50mL 乙酸乙酯，再加入 15g 无水硫酸钠，放置于振荡器上振荡 40min 后过滤。再向锥形瓶中加入 20mL 乙酸乙酯重复提取一次，合并提取液，于 40℃ 下减压浓缩至干。用 3mL 正己烷溶解，待净化。



(提取液)

3.1.3 固相萃取小柱净化

过程	试剂名称	用量	速度	等待时间	空气助推	氮吹时间	次数
活化	丙酮	5mL	3mL/min	0s	2mL	0s	1
	正己烷	5mL	3mL/min	0s	2mL	0s	1
上样		6mL	2mL/min	0s	2mL	0s	1
润洗上样	正己烷	6mL	60mL/min	5s	5mL	0s	1

第二次上样		12mL	2mL/min	0s	2mL	0s	1
润洗上样	正己烷	10mL	60mL/min	5s	5mL	600s	1
洗脱	正己烷+丙酮(3+2)	5mL	3mL/min	5s	5mL	0s	1

将收集的洗脱液置于 40℃下氮气流吹至干。最后用正己烷定容 1mL，并过 0.45um 有机相滤膜，供气相色谱-质谱测定和确证。

3.1.4 气相色谱-质谱测定条件

色谱柱：石英弹性毛细管柱 DB-17ms，30m*0.25mm (i.d.)，膜厚 0.25um，或相当者；

色谱柱温度：200℃以 10℃/min 上升至 300℃，保持 10min；

进样口温度：300℃；

色谱-质谱接口温度：280℃；

载气：氦气 (纯度 > 99.999%)，1mL/min；

进样量：1uL；

进样方式：无分流进样，1.5min 后开阀；

电离方式：NCI；

电离能量：216.5ev；

离子源温度：150℃；

四极杆温度：150℃；

反应气：甲烷，纯度大于等于 99.99%；反应气流速，2mL/min；

测定方式：选择离子监测方式；

选择监测离子 (m/z)：定量离子 348；定性离子 310,350,405

溶剂延迟：12min。

3.1.5 色谱测定与确证

根据样液中苯醚甲环唑含量的情况，选定峰面积相近的标准工作溶液，对标准工作液和样液等体积参插进样。标准工作溶液和样液中苯醚甲环唑的相应值均应在仪器的线性范围内。如果样液与标准工作溶液的选择离子色谱图中，在相同保留时间处有谱峰出现，并且在扣除背景后的样品质量色谱图中，所选离子均出现，所选择离子的丰度比与标准品对应离子的丰度比，其值在允许范围内（允许范围见下表）。在测定条件下，苯醚甲环唑的保留时间是 15.74 min，其监测离子(m/z)丰度比为 310 : 348 : 350 : 405=45 : 100 : 67 : 13 对其进行确证；根据定量离子 m/z348 对其进行外标法定量。

使用气相色谱-质谱定性时相对离子丰度最大容许误差

相对丰度（基峰）	> 50%	> 20%至 50%	> 10%至 20%	≤10%
允许的相对偏差	±20%	±25%	±30%	±50%

4 结果与讨论

4.1 实验过程为 A/B 串柱类型，经过活性炭固相萃取 A 柱的样品溶液上样后直接收集，收集液再过中性氧化铝固相萃取 B 柱，用润洗液对收集管润洗两次后一起过 B 柱，最后将目标物从 B 柱洗脱。

4.2 上样过程中的 2mL/min 的流速为国标中明确要求。

4.3 洗脱前需要对小柱进行抽干，通过设置 600s 的氮吹时间实现。

4.4 用固相萃取法净化菠菜中苯醚甲环唑残留量的净化过程实现自动化处理，减少人力的消耗，实验过程中使用的有机溶剂采用密封处理，降低了对人体的伤害且仪器能精准的控制活化、上样、洗脱等溶剂流速，使样品净化的更为充分。

参考文献

[1]GB 23200.49-2016 食品安全国家标准 食品中苯醚甲环唑残留量的测定 气相色谱-质谱法

注意事项

- 1、实验过程中用到的无水硫酸钠需在 650°C 灼烧 4h 后备用。
- 2、样品提取液过滤后，用 10mL 的乙酸乙酯冲洗滤纸，合并滤液备用。
- 3、蒸干后的样品用溶剂溶解转移至 10mL 样品管后，需用 3mL 相同的溶剂充分润洗锥形瓶，并将洗液一同倒入样品管作为上样溶液。
- 4、两次上样都应当对样品管进行润洗，60mL/min 的润洗速度可实现喷淋润洗，充分将样品管壁上残留的样品溶液洗下后过柱，防止残留的样品液对后续检测结果造成影响。
- 5、活性炭小柱活化时活化液流出速度缓慢，需设置 5mL 的空气助推使活化液充分浸润小柱后流下。
- 6、目标物洗脱时将仪器空气助推适当增加，保证残留在柱内的洗脱液完全流出。
- 7、实验中用到有毒有害试剂，应当于通风橱内进行，同时实验人员需做好防护措施。