

分析与监测

DOI:10.19853/j.zgjsps.1000-4602.2021.22.020

固相萃取/液相色谱-电喷雾串联质谱法测定水中噻菌灵

陈 峰, 张宝锋, 何 平, 王奕奕, 周 珊, 董翠维
(杭州市环境监测中心站, 浙江 杭州 310007)

摘 要: 研究了固相萃取/液相色谱-电喷雾串联质谱联用技术(SPE/LC-ESI-MS/MS)分析水中噻菌灵的方法。样品经 SPE 小柱萃取后,采用 Agilent ZORBAX SB-C18 色谱柱,以 0.2% 甲酸乙腈和 0.2% 甲酸水为流动相进行梯度洗脱,用电喷雾离子源电离,正离子多反应监测模式下进行定性、定量分析。噻菌灵在 0~100 $\mu\text{g/L}$ 浓度范围内线性良好,相关系数达 0.999 2,方法检出限为 0.16 ng/L;高、中、低三个加标水平下(5.0、20.0 和 100 ng)实际样品加标回收率范围为 74.7%~86.5%,相对标准偏差范围为 6.1%~12.9%。应用本方法检测了杭州市 68 个地表水样品的噻菌灵浓度,其中 25 个样品有检出。

关键词: 地表水; 固相萃取; 液相色谱-电喷雾串联质谱; 噻菌灵

中图分类号: TU991 **文献标识码:** B **文章编号:** 1000-4602(2021)22-0109-04

Determination of Thiabendazole in Water by Solid Phase Extraction/Liquid Chromatography – Electrospray Ionization Tandem Mass Spectrometry

CHEN Feng, ZHANG Bao-feng, HE Ping, WANG Yi-yi, ZHOU Shan, DONG Cui-wei
(Hangzhou Environmental Monitoring Center Station, Hangzhou 310007, China)

Abstract: A method of solid phase extraction/liquid chromatography – electrospray ionization tandem mass spectrometry (SPE/LC-ESI-MS/MS) for determination of thiabendazole in surface water was explored. The samples were extracted by SPE column. Liquid chromatography separation was performed on an Agilent ZORBAX SB-C18 column with a gradient elution of 0.2% formic acid acetonitrile and 0.2% formic acid as the mobile phases. Electrospray ionization and qualitative and quantitative analysis were carried out under the positive ion multi-reaction monitoring mode. Good linearity was observed in the range of 0 – 100 $\mu\text{g/L}$ thiabendazole with correlation coefficient 0.999 2, and the limit of detection (LOD) was 0.16 ng/L. At three different standard addition levels (5.0, 20.0 and 100 ng), average recovery rates of thiabendazole in practical samples ranged from 74.7% to 86.5% with RSD between 6.1% and 12.9%. The method was applied to detect thiabendazole concentration in 68 samples of surface water in Hangzhou, and thiabendazole in 25 samples was detected.

Key words: surface water; solid phase extraction; liquid chromatography – electrospray ionization tandem mass spectrometry; thiabendazole

基金项目: 杭州市农业和社会发展科研项目(20191203B66); 杭州市农业和社会发展科研项目(20191203B65); 杭州市“131”中青年人才培养计划(2016—2020 年)

通信作者: 陈峰 E-mail:15068884241@163.com

噻菌灵(TBZ)是一种苯咪唑类广谱抗菌剂,用于水果和蔬菜表面,通过抑制真菌有丝分裂过程中的微管蛋白形成,而防止由霉菌而导致的腐烂^[1]。喷施于果蔬表面上的噻菌灵通过雨水冲洗、叶面径流、地表径流、洗涤用水等多种途径进入土壤或地表水,不容易降解^[2],对生态系统和人体健康构成危害,尤其是对雄性生殖系统作用明显^[3-4]。

国内外对噻菌灵的检测方法主要有液质联用法^[5-7]、免疫分析法^[8]、分光光度法^[9]、拉曼光谱法^[10]、液相色谱法^[11-12]等,大多针对酒类、果蔬类和土壤类样品进行研究,几乎不涉及地表水样品。为此,笔者研究了采用固相萃取/液相色谱-电喷雾串联质谱法定量分析水中噻菌灵。

1 实验研究

1.1 主要仪器与试剂

1290 Infinity-6470 QQQ 液相色谱-串联质谱联用仪(Agilent 公司);Autotrace 固相萃取仪(Thermo science 公司);Milli-Q Advantage A10 超纯水系统(Millipore 公司);TurboVap® II 自动氮吹浓缩仪(Caliper 公司);Waters Oasis HLB 固相萃取小柱(6 mL, 500 mg, Waters 公司)。

甲酸(色谱纯,美国 Tedia 公司);甲醇和乙腈(色谱纯,Merck 公司);EDTA·Na₂(分析纯,国药集团化学试剂有限公司);磷酸(优级纯,国药集团化学试剂有限公司)。噻菌灵标准品采用阿尔塔科技有限公司 First Standard® 品牌标准物质。

1.2 前处理优化

取 1 000 mL 经 0.45 μm 滤膜过滤的水样,加入 5.0 mL 甲醇和 2.0 g EDTA·Na₂,静置 2 h。用 50% (体积分数)磷酸水溶液调节水样 pH 值至 2.0,以 4.0 mL/min 流速通过 Waters Oasis HLB 柱(柱子依次用 5.0 mL 甲醇与 5.0 mL 去离子水进行预处理),选用 5.0 mL 20% 甲醇淋洗,负压抽干后用 5.0 mL 甲醇洗脱。将洗脱液氮吹浓缩至 0.7 mL 左右,用甲醇准确定容至 1.0 mL 后过 0.2 μm 微孔滤膜,待测。若水样不能立即前处理,需用 0.45 μm 滤膜过滤后冰箱冷冻保存,检测前解冻至室温。

1.3 色谱质谱条件

色谱条件:采用 Agilent ZORBAX SB-C18 (1.7 μm, 2.1 mm × 100 mm) 色谱柱;流动相 A 为 0.2% (体积分数)甲酸水溶液,流动相 B 为 0.2% (体积分数)甲酸乙腈。梯度洗脱:0 ~ 1.0 min, 10% ~

20% B; 1.0 ~ 3.0 min, 20% ~ 25% B; 3.0 ~ 7.0 min, 30% ~ 90% B。进样体积:10.0 μL;流速:0.3 mL/min;样品室温度:10 °C;柱温:45 °C。

质谱条件:电喷雾电离源,多反应监测(MRM)模式,正离子扫描;碰撞池加速电压:4.0 kV;脱溶剂温度:350 °C;离子源温度:150 °C;锥孔气流量(氮气):6 mL/min;脱溶剂气流量(氮气):12 mL/min;碰撞气流量(氮气):0.15 mL/min。

2 结果与讨论

2.1 色谱与质谱条件优化

选用通用性强的 Agilent ZORBAX SB-C18 色谱柱,以 0.1% 甲酸甲醇-0.1% 甲酸水、0.2% 甲酸甲醇-0.2% 甲酸水、0.1% 甲酸乙腈-0.1% 甲酸水和 0.2% 甲酸乙腈-0.2% 甲酸水溶液作为流动相分析噻菌灵出峰情况。结果表明,以 0.2% 甲酸乙腈-0.2% 甲酸水溶液为流动相时,噻菌灵质谱响应最好,峰形对称性和尖锐度最佳。因此,以 0.2% 甲酸乙腈-0.2% 甲酸水溶液为流动相进样分析,乙腈浓度从 10% 到 90%,梯度洗脱。噻菌灵标准溶液(5.0 μg/L)的总离子流图见图 1,峰形对称尖锐。

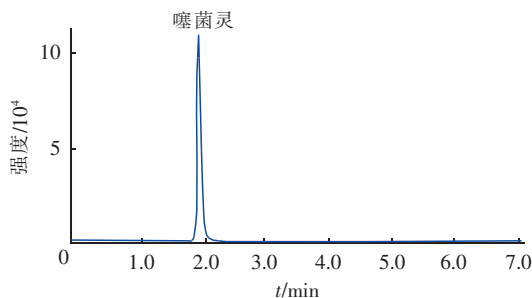


图1 噻菌灵的总离子流图

Fig. 1 Total ion chromatogram of thiabendazole

对浓度为 1 000 μg/L 的标准溶液进行 SCAN 扫描,研究各碎片离子的相对丰度,以质荷比接近于分子离子、丰度高、干扰少的离子为母离子。根据母离子继续进行产物离子扫描,通过该过程优化出理想的碎裂电压以及定性定量离子对适宜的碰撞能量,选择两个最高响应的子离子分别作为定量离子和定性离子。优化后质谱参数见表 1。

表1 优化后质谱参数

Tab. 1 Optimized mass spectrum parameters

项目	碎裂电压/eV	定量离子对(m/z)	碰撞能量1/eV	定性离子对(m/z)	碰撞能量2/eV
数值	162	202.0, 175.0	29	202.0, 131.0	41

2.2 样品前处理优化

pH 值是样品前处理优化的重要因素。研究了 pH = 2、4、7、10 条件下实样加标回收率情况, pH = 2 时噻菌灵以分子状态存在,其与基质作用减弱,萃取效率最高。

SPE 填料和固相萃取洗脱液在前处理中起到富集净化作用。在实际地表水中添加 100 ng 标准物质到 1 000 mL 水样中,对比了 6 种固相萃取小柱(Waters wax, Waters mcx, Dima HLB, Waters HLB, Waters prime HLB, Accustandard HLB)富集净化效果,结果表明 Waters HLB 柱效果最佳,平均加标回收率达 88.5%。选 5.0 mL 乙酸乙酯、5.0 mL 甲醇和 5.0 mL 乙酸乙酯/甲醇(1:1)作为洗脱剂进行比较,结果表明当使用甲醇洗脱时,噻菌灵的加标回收率最高,达 93.6%。

上样体积过大可能会影响 Waters HLB 柱(6 mL, 500 mg)的驻留效果,因而需确定噻菌灵的穿透体积以保证方法的回收率。配制不同体积(100、200、500、800、1 000 mL)的相同浓度(10.0 $\mu\text{g/L}$)溶液,首先将这些样品溶液分别通过相同的 5 个 Waters HLB 柱,然后洗脱被吸附的分析物,测定此过程回收率。结果表明,随着水样体积从 100 mL 增加到 1 000 mL,回收率基本稳定,穿透现象未发生,回收率均大于 75%。

前处理最后环节中滤膜材料的选择比较关键。比较 4 种滤膜(PET、PA、PES 和 PTFE 材质)的通过率,进行 6 组空白加标实验,结果表明 PTFE 滤膜样品噻菌灵平均通过率为 97.8%,通过率最佳。

2.3 方法线性范围和检出限

配制噻菌灵质量浓度为 0、0.5、1.0、2.0、5.0、10.0、20.0、50.0 和 100 $\mu\text{g/L}$ 的混合标准溶液,以峰面积与质量浓度绘制标准曲线。结果表明在 0 ~ 100 $\mu\text{g/L}$ 范围内线性关系良好,相关系数 r 为 0.999 2。配制 7 个 0.5 ng/L 的模拟加标水样进行分析测定,算出标准偏差 S 及检出限。得出方法检出限为 0.16 ng/L,检测下限为 0.64 ng/L。

2.4 方法精密度和准确度

在 1 000 mL 地表水实际样品中分别添加 3 个加标水平(5.0、20.0、100 ng)的噻菌灵标准,每个加标水平平行分析 6 个加标样,计算回收率和相对标准偏差,结果见表 2。可见,低、中、高三个加标水平的回收率为 74.7% ~ 86.5%,相对标准偏差为

6.1% ~ 12.9%。

表 2 方法精密度和准确度

Tab. 2 Method precision and accuracy

本底值/ng	加入量/ng	噻菌灵测定结果/ng	相对标准偏差/%	加标回收率/%
0	5.0	4.6, 3.8, 3.2, 3.5, 3.8, 3.5	12.9	74.7
0	20.0	15.9, 17.5, 16.5, 17.4, 15.8, 14.5	6.9	81.3
0	100	87.5, 82.3, 88.6, 83.5, 81.5, 95.6	6.1	86.5

2.5 实际样品分析

受杭州市农业和社会发展科研项目(20191203B66)支持,2019 年 3 月—2020 年 4 月,分别采集杭州市 68 个地表水水样,利用上述方法检测水中噻菌灵含量,结果表明,在 25 个样品中检出目标物,检出率达 37%,检出样品中噻菌灵浓度范围为 0.17 ~ 8.65 ng/L,均值为 1.15 ng/L。图 2 为某一水样检出噻菌灵情况,浓度为 0.85 ng/L。

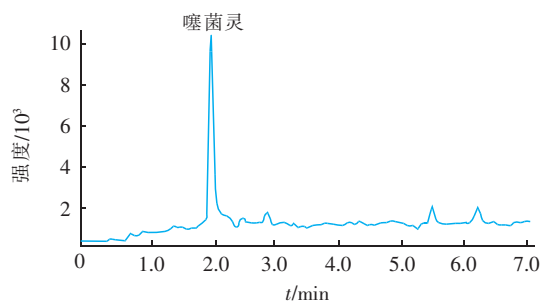


图 2 某一地表水样品总离子流图

Fig. 2 Total ion chromatogram of a surface water sample

3 结论

采用固相萃取/液相色谱-串联质谱法检测水中噻菌灵,对前处理方法和仪器分析条件进行了优化,该方法的线性关系、检出限、准确度和精密度等均较好,可用于实际地表水样品中噻菌灵的检测分析。

参考文献:

- [1] DIAZ-ALVAREZ M, TURIEL E, MARTIN-ESTEBAN A. Molecularly imprinted polymer monolith containing magnetic nanoparticles for the stir-bar sorptive extraction of thiabendazole and carbendazim from orange samples [J]. Analytica Chimica Acta, 2019, 1045: 117 - 122.
- [2] 韩朝博,魏朝俊,赵文婷,等. 噻菌灵杀菌剂在两种土壤中残留降解因素分析[J]. 北京农学院学报, 2017,

- 32(2):56-59.
- HAN Chaobo, WEI Chaojun, ZHAO Wenting, *et al.* Analysis of thiabendazole fungicide residues and degradation factors in two kinds of soil [J]. Journal of Beijing University of Agriculture, 2017, 32(2):56-59 (in Chinese).
- [3] MARTIN-DE-LUCIA I, GONCALVES S F, LEGANES F, *et al.* Combined toxicity of graphite-diamond nanoparticles and thiabendazole to *Daphnia magna* [J]. Science of the Total Environment, 2019, 688:1145-1154.
- [4] 于功昌, 王筱芬. 苯并咪唑杀菌剂的雄性生殖毒性作用机制研究进展 [J]. 职业与健康, 2014, 30(18):2661-2663, 2669.
- YU Gongchang, WANG Xiaofen. Research progress on the mechanisms of male reproductive toxicity induced by benzimidazole [J]. Occupation and Health, 2014, 30(18):2661-2663, 2669 (in Chinese).
- [5] 朱军, 尚兵, 丁雪茹, 等. 液相色谱-质谱法测定金银花中噻菌灵的残留量 [J]. 国际中医中药杂志, 2018, 40(3):258-261.
- ZHU Jun, SHANG Bing, DING Xueru, *et al.* Determination of thiabendazole in honeysuckle flower by LC-MS/MS [J]. International Journal of Traditional Chinese Medicine, 2018, 40(3):258-261 (in Chinese).
- [6] 高洁, 陈达炜, 赵云峰. 分散微固相萃取-超高效液相色谱-高分辨质谱法测定葡萄酒和啤酒中多菌灵和噻菌灵 [J]. 色谱, 2018, 36(2):143-149.
- GAO Jie, CHEN Dawei, ZHAO Yunfeng. Determination of carbendazim and thiabendazole in wine and beer by ultra high performance liquid chromatography-high resolution mass spectrometry coupled with dispersive micro solid-phase extraction [J]. Chinese Journal of Chromatography, 2018, 36(2):143-149 (in Chinese).
- [7] EKMAN E, FANIBAND M H, LITTORIN M, *et al.* Determination of 5-hydroxythiabendazole in human urine as a biomarker of exposure to thiabendazole using LC/MS/MS [J]. Journal of Chromatography B, 2014, 973:61-67.
- [8] TSIALLA Z, UCLES-MORENO A, PETROU P, *et al.* Development of an indirect enzyme immunoassay for the determination of thiabendazole in white and red wines [J]. International Journal of Environmental Analytical Chemistry, 2015, 95(13):1299-1309.
- [9] ALTUNAY N, ÜLÜZGER D, GÜRKAN R. Simple and fast spectrophotometric determination of low levels of thiabendazole residues in fruit and vegetables after pre-concentration with ionic liquid phase microextraction [J]. Food Additives & Contaminants: Part A, 2018, 35(6):1139-1154.
- [10] NIE P C, TAO D, XIAO S P, *et al.* Quantitative determination of thiabendazole in soil extracts by surface-enhanced Raman spectroscopy [J]. Molecules, 2018, 23(8):1949.
- [11] YU Q W, SUN H, WANG K, *et al.* Monitoring of carbendazim and thiabendazole in fruits and vegetables by SiO₂@NiO-based solid-phase extraction coupled to high-performance liquid chromatography-fluorescence detector [J]. Food Analytical Methods, 2017, 10(8):2892-2901.
- [12] WU Q H, LI Y P, WANG C, *et al.* Dispersive liquid-liquid microextraction combined with high performance liquid chromatography-fluorescence detection for the determination of carbendazim and thiabendazole in environmental samples [J]. Analytica Chimica Acta, 2009, 638(2):139-145.
-
- 作者简介:**陈峰(1983-),男,浙江温州人,硕士,高级工程师,主要从事环境监测与评价研究,曾获得杭州市成绩突出科技工作者、杭州市“131”中青年人才培养计划人选第二层次人才、杭州市最美青工等荣誉,被认定为杭州市D类高层次人才,第一批浙江省污染地块调查评估和治理修复项目评审入库专家、浙江省土壤污染状况详查质量监督检查专家,多个课题获浙江省科技进步奖三等奖、杭州市科技进步奖二等奖、浙江省环保科技进步奖二等奖等奖项,已发表学术论文30余篇。
- E-mail:**15068884241@163.com
- 收稿日期:**2020-09-03
- 修回日期:**2020-10-16

(编辑:孔红春)