

高效液相色谱法同时测定土壤中多菌灵、吡虫啉和甲基托布津的残留

刘文杰, 万 英, 庞新安, 张利莉

(新疆塔里木大学 生物技术研发中心 新疆生产建设兵团塔里木盆地生物资源保护利用重点实验室,
新疆 阿拉尔 843300)

摘 要: 建立了高效液相色谱法同时测定土壤中多菌灵、吡虫啉和甲基托布津残留的快速分析方法。利用甲醇 - $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ HCl 从土壤中提取, C_{18} 柱分离, 紫外检测, 在 7 min 内实现了 3 种农药的同时分离测定。3 种农药的平均回收率为 87%、97% 和 92%, 相对标准偏差为 9.8%、8.1% 和 11.0%。

关键词: 高效液相色谱; 土壤; 多菌灵; 吡虫啉; 甲基托布津

中图分类号: O657.72 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004 - 4957(2007)01 - 0133 - 03

Determination of Carbendazol, Imidacloprid and Thiophanate Methyl in Soil by High Performance Liquid Chromatography

LU Wen-jie, WAN Ying, PANG Xin-an, ZHANG Li-li

(Xinjiang Production & Construction Crops Key Laboratory of Protection and Utilization of Biological Resources in Tarim Basin, Biology Technology Research and Development Center, Tarim University, Alar 843300, China)

Abstract: A high performance liquid chromatography method was build to determination the residual of carbendazol, imidacloprid and thiophanate in soil. This method uses MeOH - $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ HCl extraction, UV detection, carbendazol, imidacloprid and thiophanate methyl was separated in 7 min. The average recoveries of three compounds were 87%, 97% and 92%, the relative standard deviations were 9.8%, 8.1% and 11.0%, respectively.

Key words: High performance liquid chromatography; Soil; Carbendazol; Imidacloprid; Thiophanate methyl

多菌灵 (carbendazol, N-(2 苯并咪唑基) 氨基甲酸甲酯) 主要防治水稻、棉花、蔬菜、果树等多种农作物病害, 它的残效期比较长, 对哺乳动物有一定的毒性^[1]。吡虫啉 (imidacloprid, 1-(6 氯 -3 吡啶甲基) -N 硝基咪唑烷 -2 基胺) 具有高效长效、低毒、广谱、内吸及保护天敌的作用, 并且对蚜虫、飞虱、叶蝉等刺吸式口器害虫有特效^[2]。甲基托布津 (thiophanate, 1,2 双 (3 甲氧羰基 -2 硫脲基) 苯) 是广谱高效内吸性杀菌剂, 对于各种经济作物的白粉病、菌核病、灰霉病等有保护和治疗作用^[3]。

作为棉花种衣剂的主要有效成分, 多菌灵、吡虫啉和甲基托布津在新疆农业生产中应用十分广泛。新疆为极度干旱的荒漠性气候, 生态环境十分脆弱, 因此对这些农用化学品在土壤中分布和残留的动态追踪非常重要。已报道多菌灵、吡虫啉和甲基托布津的残留测定方法主要有气相色谱法、紫外分光光度法、红外光谱及液相色谱法及色 - 质联用方法^[4-8]等, 但目前还没有一种可以同时分析多菌灵、吡虫啉和甲基托布津残留的方法。本文利用甲醇 - HCl 作为提取液从土壤中提取上述化合物, 高效液相色谱 - 紫外检测器同时测定土壤中多菌灵、吡虫啉和甲基托布津的残留。方法的回收率较高, 线性范围较大, 灵敏度高, 符合农药残留的分析要求。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

Waters2695 液相色谱仪 (主要包括 2487 双波长紫外 - 可见检测器, 2695 二极管阵列检测器, 柱温

收稿日期: 2005 - 12 - 20; 修回日期: 2006 - 03 - 06

基金项目: 新疆生产建设兵团博士基金资助课题

作者简介: 刘文杰 (1973 -), 男, 湖南宁乡人, 讲师, 硕士; 张利莉, 联系人, 电话: 0997 - 4788682,

E - mail: zhang63lyly@yahoo.com.cn

箱,自动进样器,自动脱气四元梯度泵等),Atlantis^B dC18色谱柱(5 μm , 4.6 $\times$ 150 mm), Atlantis dC18 保护柱(5 μm , 10 mm),安谱 DC12型氮吹仪。

乙腈(色谱纯)、甲醇(色谱纯),均购自 Signa - Aldrich公司; HCl(优级纯)西安化学试剂厂;多菌灵、吡虫啉和甲基托布津标准品购自上海安谱公司;其它试剂和溶剂均为色谱纯或分析纯。

1.2 色谱条件

流动相为甲醇 - 0.1 mol $\cdot$ L⁻¹ H₃ PO₄,流速为 1 mL/min,使用前经 0.45 μm 膜过滤;柱温为 30 $^{\circ}\text{C}$;进样量 20 μL 。采用梯度洗脱,初始配比为 40%甲醇 - 60% 0.1 mol $\cdot$ L⁻¹ H₃ PO₄, 2.6 min时切换为 65%甲醇 - 35% 0.1 mol $\cdot$ L⁻¹ H₃ PO₄。出峰顺序和时间分别为:多菌灵, 2.68 min; 吡虫啉, 4.54 min; 甲基托布津, 6.75 min。

1.3 标准曲线的绘制

准确称取一定量的多菌灵、吡虫啉和甲基托布津标准物质溶于 25 mL 0.1 mol $\cdot$ L⁻¹ HCl中作为储备液,再分别配制不同浓度的混合溶液,按 1.2方法测定标准曲线,计算相关系数。

1.4 样品的处理

取 10 g粉碎的土样于 250 mL磨口试剂瓶内,加入 50 mL 甲醇 - 0.1 mol $\cdot$ L⁻¹ HCl,混匀高速匀浆 1 min,混匀后于振荡器上振荡提取 1 h,过滤,收集滤液于 100 mL容量瓶中,用 20 mL 甲醇洗涤残渣和漏斗,合并滤液,定容,0.45 μm 微孔滤膜过滤,抽取上层液 10 mL于 50 mL烧杯中吹干,用乙腈溶解定容至 25 mL,过滤待测。

2 结果与分析

2.1 测定波长的选择

用二极管阵列检测器在 200 ~ 300 nm波长范围内扫描得到多菌灵的最大吸收波长在 229 nm左右,但在 267 nm处的吸收也比较高,吡虫啉在 269 nm处有最大吸收,甲基托布津的最大吸收波长为 229和 267 nm。综合考虑,确定检测波长为 267 nm,3种物质都有较好的灵敏度。

2.2 前处理方法的选择

考察了 5种不同溶剂对 3种物质的加标回收率(表 1)。在 3份不同的空白土壤样品中,加入不同已知量的 3种待测组分的混合标准溶液,3种物质的添加量分别为 0.5和 1 mg/kg,每个处理重复 3次。用乙腈作为提取溶剂时,发现多菌灵和甲基托布津的回收率很低,多菌灵的回收率仅为 7%,这主要是多菌灵在乙腈中的溶解度很小所致。改用乙腈 - 甲醇提取时 3种物质的回收率有所提高,当使用甲醇 - 0.1 mol $\cdot$ L⁻¹ 盐酸处理时 3种物质的回收率均大于 87%。平行测定的相对标准偏差分别为 9.8%、8.1%和 11.0%。

表 1 不同溶剂的加标平均回收率 ($n=3$)
Table 1 Recoveries of different extraction solvent ($n=3$)

Solvent	Carbendazol(多菌灵)	Imidacloprid(吡虫啉)	Thiophanate(甲基托布津)
Acetonitrile	7	100	56
Acetonitrile - Methanol(50 50)	46	120	66
Methanol	55	94	94
Methanol - H ₂ O(80 20)	58	110	112
Methanol - 0.1 mol/L HCl(80 20)	87	97	92

2.3 标准曲线与检出限

分别配制 3种标准物质质量浓度为 0.010、0.015、0.020、0.025、0.050、0.25、0.5、2.5、5.0、25 mg/L的混合标准溶液,按 1.2和 1.4的条件测定,以峰面积对质量浓度(mg/L)作图,得到工作曲线。3种物质的回归方程分别为:多菌灵: $Y=295 X (R^2=0.9999)$; 吡虫啉: $Y=471 X (R^2=0.9999)$; 甲基托布津: $Y=328 X (R^2=0.9999)$ 。以 $S/N=3$ 时测出检出限,多菌灵为 0.30 ng,吡虫啉为 0.13 ng,甲基托布津为 0.42 ng,折算成样品中的含量分别为 0.03、0.02和 0.06 mg/kg,线性范围分别为:多菌灵(0.05 ~ 50 mg/kg),吡虫啉(0.03 ~ 50 mg/kg),甲基托布津(0.07 ~ 50 mg/kg)。标准物质、空白和空白加标色谱图如图 1所示。

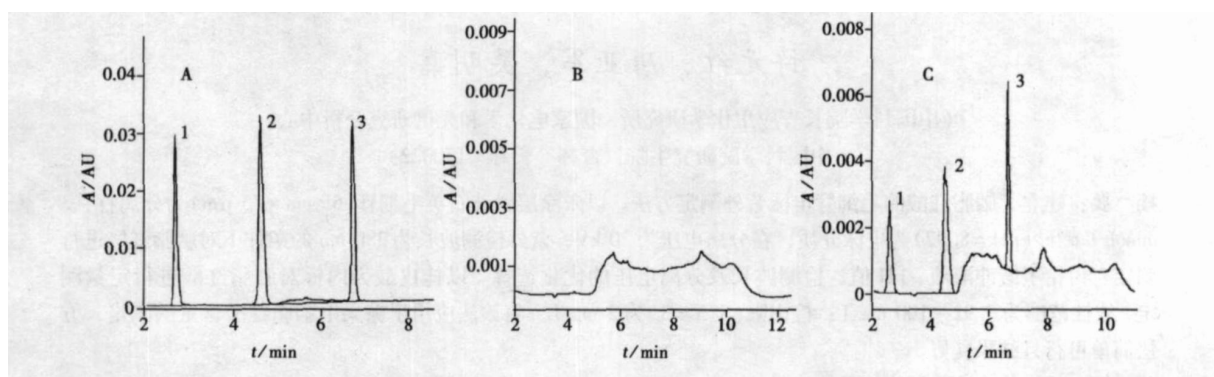


图 1 标准物质色谱图 (A)、土壤空白色谱图 (B) 和土壤加标色谱图 (C)

Fig.1 HPLC chromatograms of standard compounds(A), blank soil sample(B) and blank soil sample fortified with standards at 0.5 mg/kg(C)

1. carbendazol; 2. imidacloprid; 3. thiophanate

参考文献：

- [1] 吴丽明, 黄伯俊. 多菌灵对小鼠精子形态及雄鼠生育力的影响 [J]. 职业医学, 1992, 19(1): 11 - 12
- [2] 王振荣. 农药商品大全 [M]. 北京: 中国商业出版社, 1996: 345 - 346
- [3] 葛宝坤, 高建会, 左国华. 高效液相色谱法测定葡萄酒中 6 种防霉剂的残留量 [J]. 色谱, 2003, 21(3): 296
- [4] 李桂凤, 郝征红, 董淑敏, 等. 花生中多菌灵残留量的高效液相色谱分析方法的研究 [J]. 分析测试学报, 1998, 17(3): 69 - 71.
- [5] 于彦彬, 苗在京, 万述伟, 等. 三波长校正光度法测定水果蔬菜中多菌灵残留量 [J]. 理化检验 - 化学分册, 2005, 41(5): 353 - 357.
- [6] 戴 华, 李拥军, 张 莹. 稻谷中吡虫啉农药残留量的固相萃取高效液相色谱测定 [J]. 分析测试学报, 2002, 21(1): 70 - 72
- [7] 林江丽, 张丽静, 张旭龙, 等. 高效液相色谱法同时测定甲基托布津和扑海因 [J]. 分析化学, 2001, 29(8): 933 - 935
- [8] BERNAL J L, DEL NOZAL M J. High-performance liquid chromatographic determination of benomyl and carbendazim residues in apian samples[J]. J Chromatogr, A, 1997, 787: 129 - 136

(上接第 132 页)

二氯甲烷和氯仿的检出限 ($S/N = 3$) 分别为: $3.2 \mu\text{g/L}$ 和

$0.094 \mu\text{g/L}$ 。

2.5 样品的测定

精密称取非那雄胺样品 0.25 g , 置于顶空瓶中, 加 5 mL 的蒸馏水, 气体 1 mL 自动进样, 根据峰面积计算样品中各个有机溶剂的残留量。结果本品中残留溶剂的百分含量的平均值分别为二氯甲烷 $2.30 \mu\text{g/g}$ 和氯仿 $0.33 \mu\text{g/g}$, 符合药典标准, 样品色谱图见图 1。

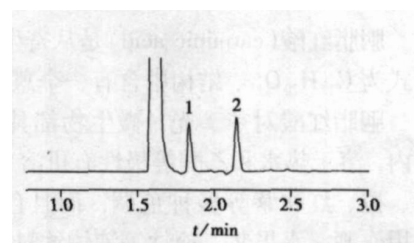


图 1 非那雄胺中溶剂残留的气相色谱图
Fig.1 GC chromatogram of residual organic solvents in finasteride

1. dichloromethane; 2. chloroform

参考文献：

- [1] SOORYM, TLAKARATNE A. The effect of minocycline on the metabolism of androgens by human oral periosteal fibroblasts and its inhibition by finasteride[J]. Archives of Oral Biology, 2000, (45): 257 - 265
- [2] 陈荣月, 母义明. 非那雄胺的药理学及其临床应用 [J]. 国外医学药学分册, 1994, (21): 356 - 360
- [3] MORZYCKI J W, LOTOWSKI Z, W LCZEWSKA A Z, et al Synthesis of 4, 17-diazastereoid inhibitors of human 5α -reductase[J]. Bioorganic & Medicinal Chemistry, 1996, (4): 1209 - 1215
- [4] GUARNA A, DANZA G, BARTOLUCCI G, et al Synthesis of 5, 6, 6- $[^2\text{H}_3]$ finasteride and quantitative determination of finasteride in human plasma at icogram level by an isotope-dilution mass spectrometric method [J]. J Chromatogr, B, 1995, (674): 197 - 204
- [5] LIX J, FANG F, WANG X J, et al Synthesis of finasteride[J]. Transactions of Tianjin University, 2001, (7): 286 - 289
- [6] 中华人民共和国卫生部药典委员会. 中华人民共和国药典: 二部 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2000, 附录 192