

高效液相色谱法测定西瓜中残留的噻菌铜

毛江胜, 邓立刚, 李增梅, 赵善仓, 赵平娟

(农业部食品质量监督检验测试中心 (济南), 山东 济南 250100)

摘要: 以 XAD-7 树脂富集提取, 柱层析纯化, 建立了测定西瓜中残留的微量噻菌铜的主要降解产物噻二唑的高效液相色谱分析。使用反相 Symmetry Shield^{RP} C₁₈ (5 μm) 250 mm × 4.6 mm 为分离柱; 流动相为乙腈 - 含 0.1% 乙酸的水溶液 (体积比 12 : 88); 流速为 0.6 mL/min; 紫外检测波长为 313 nm; 外标法定量。样品的平均加标回收率为 89%~94%, 相对标准偏差 (RSD) 为 0.89%~1.98%。检出限为 0.01 mg/kg (S/N = 3)。

关键词: 高效液相色谱法; 噻菌铜; 西瓜; 残留检测

中图分类号: O657.72; S482.25 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004 - 4957 (2007) 05 - 0752 - 02

Determination of Thiodiazole - copper Residue in Watermelon by HPLC

MAO Jiang-sheng, DENG Li-gang, LI Zeng-mei, ZHAO Shan-cang, ZHAO Ping-juan

(Monitor Inspection & Test Center of Food Quality (Jinan) Ministry of Agriculture, Jinan 250100, China)

Abstract: A high performance liquid chromatographic method was developed for the determination of thiodiazole - copper (TD - Cu) residue in watermelon via the determination of tizanidine (AMT), the major degradation product of TD - Cu. The sample was pretreated with Amberlite XAD-7 resin and the extract was purified and separated by Waters Symmetry^{RP} C₁₈ chromatographic column (250 × 4.6 mm). The mobile phase was a mixture of acetonitrile and 0.1% acetic acid aqueous solution with a flow rate of 0.6 mL/min. The UV detector was set at λ_{313 nm}. The detection limit was 0.01 mg/kg. The average recovery for the determination of AMT was 89% - 94% and the relative standard deviation was in the range of 0.89% - 1.98%. Experimental results showed that the amount of TD - Cu was in the range of 0.256 - 1.078 mg/kg during the watermelon growing period, but was not detected in the harvest time indicating that the use of TD - Cu is safe.

Key words: High performance liquid chromatography (HPLC); Thiodiazole - copper; Watermelon; Residue determination

噻菌铜 (thiodiazole - copper) 是我国自主开发研制的一种新型噻唑类有机铜杀菌剂^[1], 于 2002 年首次通过农业部农药临时登记。其化学名称为 2-氨基-5-巯基-1,3,4-噻二唑铜络合物, 主要代谢产物为噻二唑 (tizanidine, AMT), 结构见图 1, 所以本实验均以测定噻二唑的残留量作为定量依据。此药高效、低毒、安全, 防治作物细菌性、真菌性病害高效, 用于防治西瓜枯萎病效果明显。目前, 关于其残留的检测方法, 还没有相应的国家及部颁标准, 国外也未见报道, 所以本文建立了西瓜中噻菌铜残留量的检测方法。该监测体系的建立对于监督其在果蔬中的使用及制定其最高残留限量 (MRL 值), 保护人体健康, 提供了检测依据, 具有现实意义。该法具有简便、准确、灵敏度高、重复性好等优点。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

Waters2695 高效液相色谱仪; Waters2996 PDA 检测器; IKA-werke T25 匀浆机; Sigma 3K30 离心机; AMT 标准品 (纯度 95.0%, Sigma 公司), Amberlite XAD-7 树脂 (德国 SERVA 公司); 甲醇、乙腈、二甲基甲酰胺和冰醋酸均为分装纯。龙克菌原药由浙江省温州市龙湾化工厂提供。

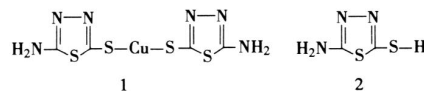


图 1 噻菌铜 (1) 与噻二唑 (2) 的化学结构
Fig. 1 Chemical structures of thiodiazole - copper standard (1) and AMT standard (2)

收稿日期: 2006 - 08 - 05; 修回日期: 2006 - 09 - 05

作者简介: 毛江胜 (1977 -), 男, 山东青州人, 助理研究员, Tel: 0531 - 83178203, E - mail: mjsheng1@sina.com.cn

1.2 标准溶液的配制

准确称取 0.052 1 g AMT 标准品，用甲醇溶解并定容于 100 mL 棕色容量瓶中，配制成 521 mg/L 的储备液。根据需要，使用甲醇稀释制备成适当浓度的标准工作液。

1.3 色谱条件

Waters Symmetry^{RP} C₁₈ 色谱柱，250 × 4.6 mm；流动相：乙腈 - 0.1% 乙酸水溶液（体积比 12 : 88）；流速 0.6 mL/min；检测波长 313 nm；进样量 20 μL；室温下操作。

1.4 富集层析柱的制备

先用乙腈、丙酮、甲醇、乙醚和乙酸等比例混合液浸泡 XAD-7 树脂 12 h，然后用乙醚、甲醇分别依次冲洗。将浸泡在甲醇中的树脂填入层析柱（25 cm × 1 cm），树脂长度大约 12 cm，层析柱两端用脱脂棉固定树脂。装好的层析柱用 20 mL 二甲基甲酰胺浸泡 1 h，再用甲醇、蒸馏水冲洗，即可使用。

1.5 样品预处理与噻二唑的富集与净化^[2]

称取样品 20.0 g 于离心管中，加入 0.1 mol/L 硫化钠溶液 40 mL，高速匀浆提取两次，每次 1 min，低速离心，取上清液加入 100 mL 容量瓶，用稀盐酸调节 pH 3，使噻二唑呈分子状态，以利层析柱吸附富集。定容，过滤，上样于层析柱中，流速为 2 mL/min。富集后，将树脂内残留的水分吸干。在层析柱中加入 20 mL 二甲基甲酰胺，浸泡 10 min，收集淋洗液，定容至 20 mL，有机滤膜过滤，待液相色谱分析。

2 结果与讨论

2.1 方法的回收率、精密度^[3]

以西瓜为研究对象，以代谢产物噻二唑为标准品，进行加标回收试验。添加噻二唑含量为 0.01、0.05、0.1 mg/kg 时，重复 6 次其平均回收率为 89%、91%、94%，相对标准偏差 1.98%、0.89%、1.66%（表 1，图 2）。

表 1 添加回收率与精密度（n = 6）
Table 1 Recovery and precision (n = 6)

Spiked AMT $w_A / (\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1})$	Found $w_F / (\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1})$	Recovery $R / \%$	RSD $s_r / \%$
0.01	0.008 9	89	1.98
0.05	0.046	91	0.89
0.1	0.094	94	1.66

2.2 线性范围及检出限

将不同浓度系列标准溶液，按“1.3 节”色谱条件分析。以进样浓度 X 为横坐标，峰面积 Y 为纵坐标，做标准曲线，求得线性回归方程为 $Y = -1.55 \times 10^4 + 8.07 \times 10^4 X$ ，相关系数 $r = 0.999$ 8，其检出限 ($S/N = 3$) 为 0.01 mg/kg。

2.3 实际样品分析

将大棚温室内种植的西瓜做喷洒农药处理，然后采集成长期和收获期西瓜样品，测定前 - 18 °C 冷冻保存。样品按“1.5 节”方法处理后测定，计算得成长期西瓜中噻菌铜残留量为 0.256 ~ 1.078 mg/kg；收获期西瓜中噻菌铜残留量均为未检出。说明噻菌铜在西瓜中的降解速度较快，对人体较为安全。

参考文献：

- [1] 李宗成. 近年来农药开发的新品种 [J]. 农药, 2001, 40(2): 45 - 47.
- [2] 农业部农药检定所. 农药残留量实用检测方法手册 [M]. 第三卷. 北京: 中国农业出版社, 2005.
- [3] 中华人民共和国农业部. NY/T 788 - 2004 农药残留试验准则 [S].

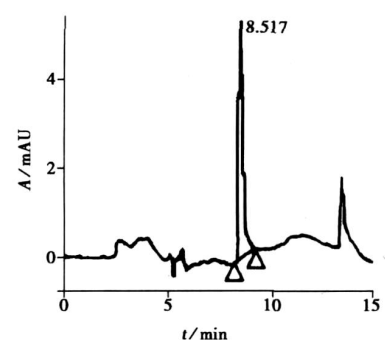


图 2 西瓜样品加标的色谱图
Fig. 2 Chromatograms of tizanidine (AMT) spiked sample