

葡萄和土壤中吡唑醚菌酯的高效液相色谱残留分析方法

李瑞娟, 于建垒, 宋国春

(山东省农业科学院植保所, 山东 济南 250100)

Determination of pyraclostrobin Residues in Grape and Soil by HPLC

Li Ruijuan, Yu Jianlei, Song Guochun (Plant Protection Institute, Shandong Academy of Agricultural Sciences, Jinan 250100, China)

Abstract: A HPLC method for the determination of pyraclostrobin residues in grape and soil was developed. Pyraclostrobin were extracted from the samples with dichloromethane, cleaned up with SPE-C₁₈ and analyzed by HPLC with C₁₈ column, acetonitrile/water (70/30, by volume) as mobile phase and UV detector at 278nm. The results showed that the minimum detectable amount was 2×10^{-10} g, the linear correlation was 0.998 6, the average recoveries were in the range of 80.4%~94.1% and 81.8%~98.4%, the RSD were 1.8%~3.8% and 2.6%~3.0% for grape and soil respectively. The method was sensitive, precise, rapid and simple. It was applicable to the determination of pyraclostrobin residues in grape and soil.

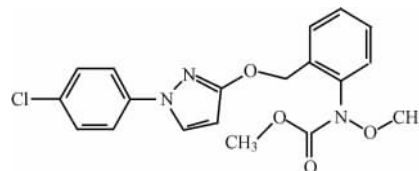
Key words: pyraclostrobin; grape; soil; HPLC; residue; analysis

摘要: 建立了测定葡萄及土壤中吡唑醚菌酯残留的液相色谱检测方法。样品以二氯甲烷提取和固相萃取柱 (SPE C₁₈ 柱) 萃取净化, 反向高效液相色谱法测定, 乙腈和水 (70+30) 为流动相, C₁₈ 色谱柱分离, 278nm 紫外定量检测吡唑醚菌酯。该方法吡唑醚菌酯的最小检出量为 2×10^{-10} g, 线性相关系数为 0.998 6, 葡萄及土壤加标回收率分别为 80.4%~94.1%、81.8%~98.4%, 相对标准偏差 (RSD) 分别为 1.8%~3.8%、2.6%~3.0%。方法具有简便、快捷、准确的特点, 适合葡萄及土壤中吡唑醚菌酯残留量的测定。

关键词: 吡唑醚菌酯; 葡萄; 土壤; 液相色谱法; 残留分析

中图分类号: S481⁺.8; O657.7⁺2 文献标识码: A 文章编号: 1002-5480 (2010) 06-33-04

吡唑醚菌酯由德国巴斯夫公司研发生产的甲氧基丙烯酸酯类杀菌剂。化学名称: 甲基(N)-[2-[[1-(4-氯苯)-1H-吡唑-3基]氧]甲基苯基]-N-甲氧基甲酸酯; 熔点 63.7~65.2℃; 溶解性: 水中 0.000 19 (20℃, g/100mL), 可溶于酮、酯、醇、芳烃等普通有机溶剂; 结构式:



吡唑醚菌酯具有杀菌谱广、活性高、与环境生物相容性好的特点, 能有效防治农作物主

收稿日期: 2009-11-24

基金项目: 山东省资源节约型社会科技支撑体系建设专项计划 (2007JY14)

要真菌病害,用于葡萄防治葡萄霜霉病^[1-4]。国外对吡唑醚菌酯在水果、蔬菜中的残留测定方法已有大量报道^[5-6],大多数采用甲醇和水提取,硅胶净化,HPLC-紫外或HPLC-质谱检测^[5-6]。国内尚未有吡唑醚菌酯残留测定的报道。本研究研究了吡唑醚菌酯在葡萄和土壤中残留分析的样品前处理和高效液相色谱检测条件,为吡唑醚菌酯在葡萄上合理使用和制定《农药安全使用标准》提供技术依据。

1 材料和方法

1.1 仪器和试剂 LC-20AT液相色谱仪(日本Shimadzu公司);紫外检测器;工作站;电子天平;旋转蒸发仪;超声波清洗仪;组织捣碎机;250mL碘瓶等玻璃仪器;甲醇、乙腈(色谱纯);二氯甲烷、无水硫酸钠(A.R.);重蒸水;吡唑醚菌酯标准品(≥98.0%,巴斯夫欧洲公司);试验所用葡萄、土壤均取于未使用过吡唑醚菌酯的葡萄园。

1.2 色谱条件 色谱柱:VP-ODS C₁₈柱,250mm×4.6mm不锈钢柱;流动相:乙腈:水=70:30(V/V);流速:0.8mL/min;紫外最大吸收波长:278nm;进样量:20μL;柱温:室温。

1.3 标准溶液的配制 称取吡唑醚菌酯标准品约0.100 0g(准确至0.000 1g)于100mL容量瓶中,用甲醇溶解并定容至刻度,摇匀,得1g/L标准贮备液,于-18℃下冷冻保存(可使用3个月)。实验中根据需要用甲醇将标准贮备液稀释为适当浓度的标准溶液。

1.4 样品的提取和净化 称取处理的样品20g于250mL碘瓶中,分3次加80、60、60mL二氯甲烷,超声波各提15min,将提取液经无水硫酸钠过滤,合并滤液至平底烧瓶中,用旋转蒸发器(30℃)减压浓缩至近干,吹干。用甲醇定容至10mL,过SPE C₁₈柱,待测。

1.5 计算

$$R_1 = \frac{C_{\text{标}1} \cdot V_{\text{标}1} \cdot S_{\text{样}1} \cdot V_{\text{终}1}}{V_{\text{样}1} \cdot S_{\text{标}1} \cdot W_1}$$

式中: R_1 —样本中吡唑醚菌酯残留量(mg/kg);

$C_{\text{标}1}$ —吡唑醚菌酯标准溶液浓度(μg/mL);

$V_{\text{标}1}$ —吡唑醚菌酯标准溶液进样体积(μL);

$V_{\text{终}1}$ —样本溶液最终定容体积(mL);

$V_{\text{样}1}$ —样本溶液进样体积(μL);

$S_{\text{样}1}$ —注入样本溶液的峰面积响应值;

$S_{\text{标}1}$ —注入标准溶液的峰面积响应值;

W_1 —称样质量(g)。

2 结果和讨论

2.1 萃取溶剂的选择 文献报道的前处理是采用甲醇和水提取、硅胶净化,在综合分析操作简便性、提取效率和净化效果的基础上,本方法分别采用二氯甲烷、丙酮:水=8:2(V/V)、乙酸乙酯:石油醚=2:1(V/V)对吡唑醚菌酯进行了提取比较。用已加入吡唑醚菌酯0.01μg/g的试样,分别用二氯甲烷、丙酮/水、乙酸乙酯/石油醚超声提取15min,各平行测定4份。结果表明,平均提取率二氯甲烷95.4%,丙酮/水82.3%,乙酸乙酯/石油醚80.7%,且二氯甲烷提取的杂质较少,故采用二氯甲烷作萃取溶剂。

2.2 液相色谱条件 对吡唑醚菌酯的分离,本试验对CN色谱柱和C₁₈色谱柱进行了比较。选用CN色谱柱(250mm×4.6mm,德国MACHEREY-NAGEL公司),流动相为正庚烷:四氢呋喃=91:9(V/V),0.8mL/min,峰形尖锐,但葡萄样品杂质峰与吡唑醚菌酯峰部分重叠。选用C₁₈色谱柱(250mm×4.6mm,日本SHIMADZU公司),流动相为甲醇:水=75:25(V/V),0.8mL/min,峰形较差,左右不对称;流动相为乙腈:水=70:30(V/V),0.8mL/min,峰形尖锐,同时葡萄和土壤样品中的吡唑醚菌酯峰与杂质峰完全分离,故选用C₁₈色谱柱,流动相为乙腈:水=70:30(V/V),0.8mL/min。

2.3 线性范围和检测限 以甲醇为溶剂,配制吡唑醚菌酯标准系列,浓度分别为0.01、0.02、0.1、0.2、1、2、5μg/mL,各进样20μL。测定结果显示,液相色谱峰面积Y与吡唑醚菌酯浓度X呈线性正相关($p < 0.001$),其校准曲线方程为 $Y = 5\,953.7X - 9\,406.9$,相关系数为0.998 6(图1)。

在上述色谱条件下,当溶液中吡唑醚菌酯浓度低至0.01μg/mL,峰高信噪比>3,因此,吡

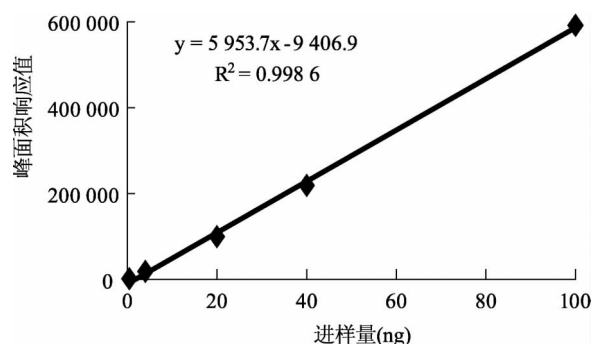


图1 吡唑醚菌酯标准曲线

唑醚菌酯的最小检出量为 2×10^{-10} g。表1试验结果显示, 当葡萄中吡唑醚菌酯添加量为 $0.01 \mu\text{g/mL}$,

加标回收率为83.5%, 变异系数为3.8%, 峰高信噪比 >3 , 因此, 吡唑醚菌酯在葡萄中的最低检测浓度为 0.01mg/kg 。我国尚未规定吡唑醚菌酯在葡萄中最高残留限量 (MRL值), 食品法典委员会 (CAC) 规定吡唑醚菌酯在葡萄中最高残留限量 (MRL值) 为 2.0mg/kg ^[7], 本方法的最小检出浓度能满足要求。

2.4 方法的回收率和精密度 在不含吡唑醚菌酯的葡萄及土壤中分别添加 0.01 、 1 、 2mg/kg 的吡唑醚菌酯, 每个加标量平行测定5次, 计算加标回收率和变异系数 (表1, 图2~7)。

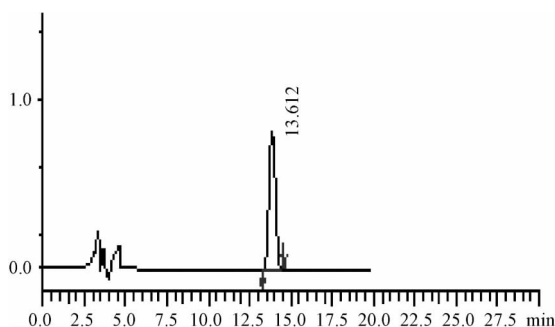


图2 吡唑醚菌酯标样色谱图

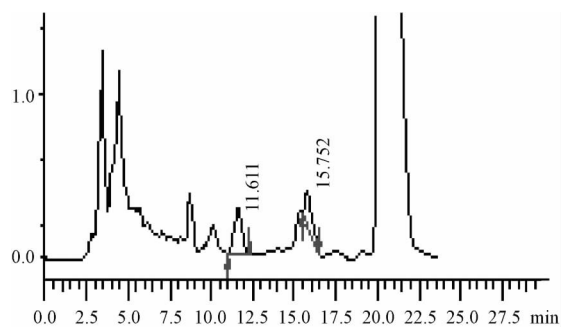


图3 葡萄空白样品色谱图

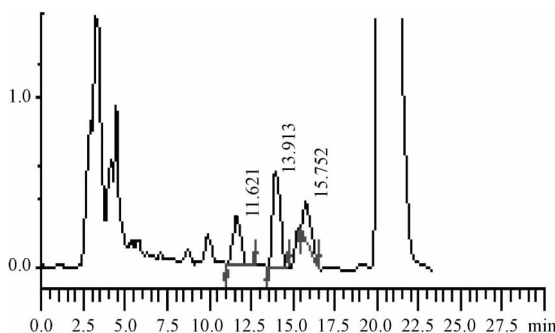


图4 葡萄添加吡唑醚菌酯标样色谱图

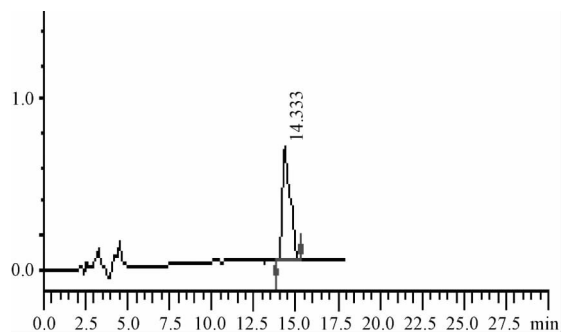


图5 吡唑醚菌酯标样色谱图

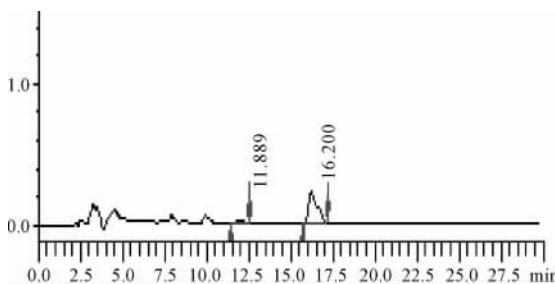


图6 土壤空白色谱图

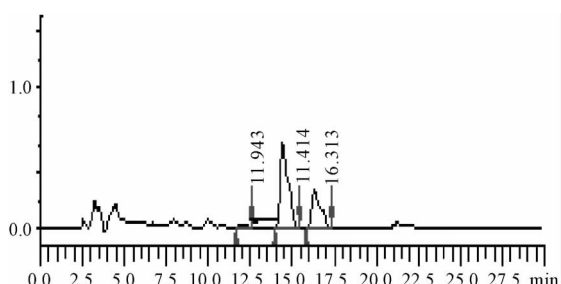


图7 土壤添加吡唑醚菌酯标样色谱图

表1 空白葡萄、土壤添加吡唑醚菌酯的回收率和精密度

添加浓度 (mg/kg)	重复	葡萄			土壤		
		回收率 (%)	平均 (%)	RSD (%)	回收率 (%)	平均 (%)	RSD (%)
2.0	1	94.1	91.7	1.8	97.5	96.2	2.6
	2	90.9			94.5		
	3	89.7			97.9		
	4	91.2			98.4		
	5	92.5			92.7		
1.0	1	88.7	86.2	2.3	88.1	87.1	3.0
	2	87.4			83.9		
	3	83.7			87.2		
	4	86.2			85.7		
	5	84.8			90.8		
0.01	1	80.4	83.5	3.8	85.2	84.7	2.6
	2	82.9			81.8		
	3	83.5			84.6		
	4	81.9			87.9		
	5	88.7			83.8		

表1结果显示，试样中的添加量为0.01、1.0、2mg/kg，葡萄和土壤中的加标回收率分别为80.4%~94.1%、81.8%~98.4%，变异系数为1.8%~3.8%、2.6%~3.0%。这表明，本方法的准确性、再现性可以满足痕量吡唑醚菌酯检测的要求。

3 结论

本文建立的葡萄和土壤中吡唑醚菌酯残留检测方法，前处理简便，检测方法精密度和准确度较好，线性范围较宽，添加回收率高，不同水平的添加回收率波动小，方法的检出限低，可准确、快速地测出葡萄及土壤中吡唑醚菌酯的残留量。

参考文献

1 王佩圣,程星,朱金钰,等. 60%吡唑醚菌酯·代森联水分散粒剂(百泰)防治黄瓜疫病田间药效试验[J].农药科学与管理,2007,28(9):37~39.

2 王万立,刘春艳,郝永娟,等. 新型杀菌剂F500 的抗菌活性测定[J].天津农业科学,2005 ,11 (2) :46~48.

3 张福远,王绍敏,刘秀玲,等.60%吡唑醚菌酯·代森联(百泰)水分散粒剂对卵菌纲真菌引起的蔬菜病害控制作用研究[J].农药科学与管理, 2007,28(7):29~31.

4 张平磊.新型杀菌剂-百泰[J].农化市场十日讯 ,2007, 27:24~24.

5 郑杨,戴海波,刘运凤,等.吡唑醚菌酯·烯酰吗啉18.7%水分散粒剂高效液相色谱分析 [J]. 农药科学与管理, 2008, 29(12):9~12.

6 Uana de Melo Abreu;Pierluigi Caboni;Paolo Cabras. Validation and global uncertainty of a liquid chromatographic with diodearray detection method for the screening of azoxystrobin, esoxim-methy, rifloxystrobin, famoxadone-pyraclostrobin and fenamidone in grapes and wine [J], Analytica Chimica Acta,2006, 573~574,291~297.

7 品伙伴网/农兽药基本信息查询[EB/OL].http://www.db.foodmate.net/pesticide/inder.php. quote time:2009-02-17-18:52.