毒性与残留

高效液相色谱法测定大白菜中虫酰肼和辛硫磷的残留量

贺 敏，贾春虹，陈 莉，赵尔成，余苹中，朱晓丹
(北京市农林科学院 植物保护环境保护研究所，北京 100097)

摘要：[方法]样品用乙腈提取，弗罗里硅土固相萃取小柱净化，高效液相色谱仪分离，紫外234、281 nm分别检测虫酰肼和辛硫磷，外标法定量。**[结果]**对大白菜和土壤中的虫酰肼、辛硫磷进行不同水平的添加回收率试验，方法的平均回收率为77.18%~107.27%，相对标准偏差为1.50%~8.83%。虫酰肼在大白菜和土壤中的最低检测质量分数为0.01 mg/kg，辛硫磷在大白菜和土壤中的最低检测质量分数为0.02 mg/kg。**[结论]**该方法的灵敏度、准确度、精密度符合农药残留分析的要求，适合大批量样品的检测。

关键词：虫酰肼；辛硫磷；大白菜；高效液相色谱；残留
中图分类号：TQ450.2 **文献标志码：**A **文章编号：**1006-0413(2011)12-0912-03

Analysis Method for Residue of Tebufenozide and Phoxim in Cabbage by HPLC

HE Min, JIA Chun-hong, CHEN Li, ZHAO Er-cheng, YU Ping-zhong, ZHU Xiao-dan
(Institute of Plant Protection and Environment Protection, Academic of Beijing Agricultural Science, Beijing 100097, China)

Abstract: [Methods] A determination method of tebufenozide and phoxim residue in cabbage was established by HPLC. The sample was extracted by acetonitrile, cleaned by Florisil-SPE column and separated by high performance liquid chromatography. The tebufenozide and phoxim were detected by DAD detector at 234 and 281 nm respectively and quantified with external standard method. **[Results]** The average recoveries of the method ranged from 77.18-107.27%, and the relative standard deviation was 1.50-8.83%. The lowest detectable concentration of tebufenozide and phoxim in cabbage and soil samples were 0.01, 0.02 mg/kg respectively. **[Conclusions]** The method had high sensitivity, accuracy and precision and was suitable for the detection of large numbers of samples.

Key words: tebufenozide; phoxim; cabbage; HPLC; residue

虫酰肼和辛硫磷是国内外重点关注和检测的农药。虫酰肼(tebufenozide)是双酰肼类昆虫生长调节剂，它们可诱使鳞翅目害虫过早蜕皮，从而相对地快速抑制昆虫进食，同时该药具有内吸性；辛硫磷(phoxim)为低毒有机磷农药，以触杀和胃毒作用为主，无内吸作用，对鳞翅目幼虫很有效。国内外关于虫酰肼、辛硫磷的检测分析方法，已见报道的有气相色谱法、液相色谱法、气质联用、液质联用等[1-13]，这些方法主要集中在单一农药残留分析方法的研究上，同时检测虫酰肼和辛硫磷的研究报道甚少。本文建立了同时检测大白菜和土壤中虫酰肼、辛硫磷的高效液相色谱残留分析方法。该方法利用固相萃取小柱净化，在保证去除干扰的前提下，既减少了操作步骤，又大大减少了有机溶剂的用量；采用二极管阵列检测器的多波长模式，保证虫酰肼、辛硫磷能在最大吸收波长条件下定量，提高了方法的灵敏度。本方法的回收率达到《农药残留准则》[14]的要求，可为同类研究提供参考。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

Waters 2695高效液相色谱仪，配备2998二极管阵列检测器(DAD)，Waters SunFire™ C_{18}不锈钢柱(250 mm × 4.6 mm i.d.，5 μm)，分析软件Empower 2；1/10万和1/100电子天平，康式振荡机、BUCHI旋转蒸发浓缩仪、高速离心机，超声波清洗器等。

分析纯乙腈(北京化工厂)；色谱纯乙腈(迪马公司)；虫酰肼和辛硫磷标准品，纯度分别为99.8%和99.9%(百灵威科技有限公司)；弗罗里硅土固相萃取小柱(DIKMA-Florisil)；无水硫酸钠使用前在130 ℃烘烤6 h。

1.2 方法

1.2.1 样品制备

大白菜植株、土壤均取自北京市昌平区大白菜试验地。植株样品采集后切碎混匀；土壤样品需阴干，去杂质、粉碎、过380 μm筛。样品混匀四分法留样。所有样品均置于-20 ℃冰箱中储存，待测定。

1.2.2 样品提取

称取样品(土壤20 g、大白菜20 g)置于250 mL具塞三角瓶中，加入5 g氯化钠，100 mL乙腈后振荡1 h，静置1 min后过无水硫酸钠漏斗，收集50 mL上清液，转入100 mL浓缩瓶中，旋转蒸发仪上浓缩近干，氮吹仪吹干，待净化。

收稿日期：2011-07-14，**修返日期：**2011-09-28
基金项目：农业部农药检定所农药残留试验项目(2009P358)
作者简介：贺敏(1980—)，女，助理研究员，硕士研究生，主要从事环境行为和农产品安全性方面的研究。Tel:010-51503435，E-mail:hemin800420@163.com。

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

1.2.3 样品净化

采用弗罗里硅土固相萃取小柱净化,淋洗液为乙腈。首先用5 mL乙腈预淋洗固相小柱,弃去淋出液。将平底烧瓶中的浓缩物转移到小柱内,用1 mL×4次淋洗液洗脱柱内样品,收集淋出液,在旋转蒸发仪上浓缩近干,用乙腈定容至2 mL,过膜后供HPLC分析。

1.2.4 色谱分析条件

Waters-2695高效液相系统配2998二极管阵列检测器(DAD),Waters Sunfire-C_{18}不锈钢柱(5 μm,250 mm×4.6 mm i.d.),Waters Sunfire-C_{18}保护柱(5 μm,20 mm×4.6 mm i.d.);流动相为70%(体积分数)乙腈-水混合溶液,使用前过0.45 μm滤膜,流速为1 mL/min,进样体积为20 μL,柱温为35 ℃;虫酰肼的最佳检测波长设定为234 nm,辛硫磷的最佳检测波长设定为281 nm;虫酰肼的保留时间为7.33 min,辛硫磷的保留时间为10.77 min(见图1);定量方法:外标法定量。

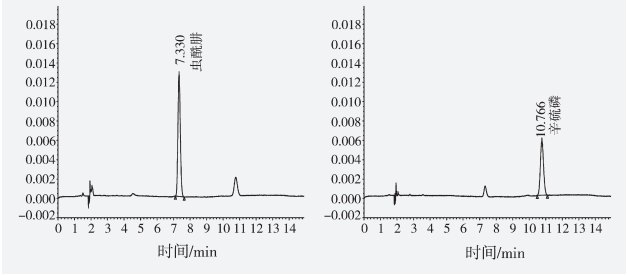

图1 虫酰肼(234 nm)和辛硫磷(281 nm)的标准色谱图

2 结果与分析

2.1 分析方法的线性相关性

将虫酰肼和辛硫磷标准贮备液用乙腈稀释成0.1、0.2、0.5、1.0、2.0、5.0、10.0 mg/L标准液,取20 μL进样测定,外标法定量。以进样量为横坐标、紫外吸收峰面积为纵坐标绘制工作曲线,结果表明在相对应的质量浓度范围内,呈现出较好的线性关系。虫酰肼的标准曲线方程为y=60276x+970.74,r^2=1;辛硫磷的标准曲线方程和相关系数分别为y =35 852x-386.11,r^2=0.9999,呈极显著相关。

2.2 分析方法的准确度及精密度

取空白大白菜、土壤样品,设定3个添加水平,每个质量浓度设5个重复,按照1.2方法的测定步骤进行添加回收率实验,另设空白对照。实验测定结果见表1,色谱图见图2、3。结果表明:虫酰肼在大白菜中的平均回收率在95.37%~101.69%之间,相对标准偏差1.50%~3.88%;在土壤中平均回收率在77.18%~102.23%之间,相对标准偏差为1.72%~8.83%。辛硫磷在大白菜中平均回收率在93.33%~102.01%之间,相对标准偏差为1.78%~2.90%;在土壤中的平均回收率在100.56%~107.27%之间,相对标准偏差为4.45%~6.90%。试验结果均符合农药残留分析要求。

表1 虫酰肼和辛硫磷在大白菜、土壤中的添加回收率和相对标准偏差

样品	质量分数/(mg·kg^{-1})	回收率/% 1	2	3	4	5	平均	标准偏差	相对标准偏差/%
虫酰肼 土壤	0.02	87.21	70.62	75.56	71.93	80.61	77.18	6.81	8.83
	0.20	94.00	96.88	92.09	95.06	95.11	94.63	1.76	1.86
	1.00	100.71	103.91	103.17	103.39	99.99	102.23	1.76	1.72
大白菜	0.02	99.27	93.02	93.75	95.35	95.45	95.37	2.42	2.53
	0.20	107.13	97.68	103.99	101.28	98.36	101.69	3.95	3.88
	1.00	100.81	99.91	101.07	99.27	97.33	99.68	1.50	1.50
辛硫磷 土壤	0.02	96.92	92.79	101.26	103.58	108.27	100.56	5.97	5.94
	0.20	98.03	107.43	101.89	113.93	115.05	107.27	7.40	6.90
	1.00	98.36	109.25	100.99	103.61	98.38	102.12	4.54	4.45
大白菜	0.02	94.95	89.11	93.33	92.97	96.29	93.33	2.71	2.90
	0.20	97.10	99.11	95.91	101.45	101.87	99.09	2.62	2.64
	1.00	102.07	103.61	102.72	102.76	98.91	102.01	1.82	1.78

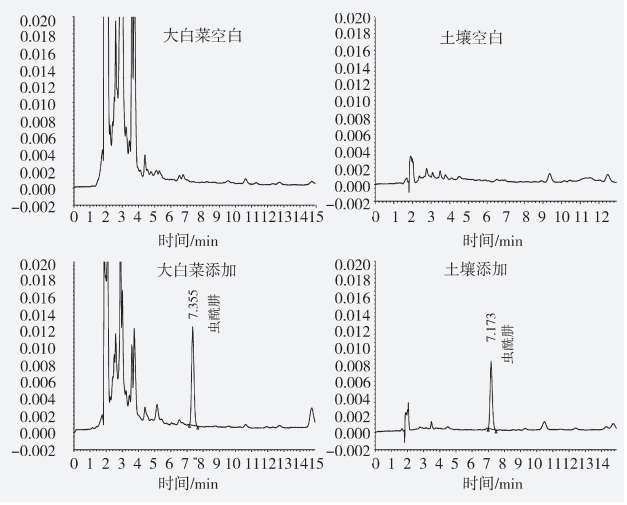

图2 虫酰肼在土壤和大白菜上的空白和添加色谱图

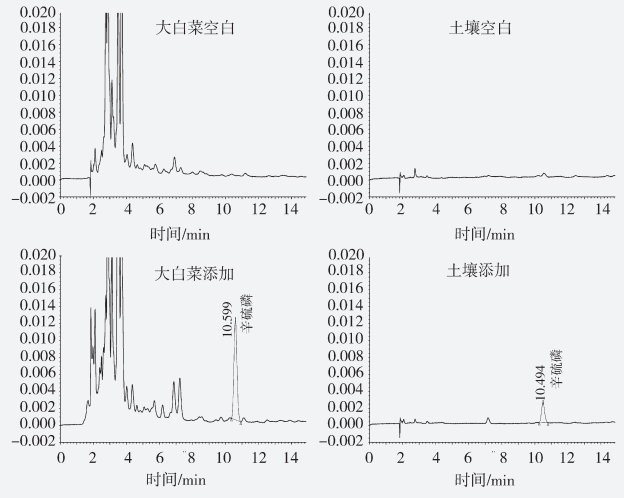

图3 辛硫磷在土壤和大白菜上的空白和添加色谱图

2.3 方法的最小检出量(LOD)和样品最低检测浓度(LOQ)

本方法的灵敏度分别以噪音信号的3倍确定最小检出量,噪音信号的10倍确定样品最低检测质量分数[15]。上述选定的色谱条件下,虫酰肼标准品的HPLC紫外最小检出量为1 ng,辛硫磷标准品的HPLC紫外最小检出量为2 ng。

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

大白菜和土壤中虫酰肼的最低检测质量分数为0.01 mg/kg，辛硫磷的最低检测质量分数为0.02 mg/kg。

3 结论

实验结果表明：本方法快速简单，灵敏度、准确度、精密度、方法的回收率、相对标准偏差均符合农药残留分析的要求。NY 774—2004规定虫酰肼在叶菜上的最大允许残留限量(MRL)为0.5 mg/kg，GB 2763—2005制定的辛硫磷在蔬菜上的最大允许残留限量(MRL)为0.05 mg/kg，本方法能检测大白菜中虫酰肼的最低检测质量分数为0.01 mg/kg，辛硫磷的最低检测质量分数为0.02 mg/kg，能满足国家标准或行业标准的检测要求。利用本方法检测虫酰肼和辛硫磷残留样品，灵敏度高、重现性好，能保证检测分析数据的可靠性。

参考文献：

[1] 农业部农药检定所. NY/T 761—2008. 蔬菜和水果中有机磷、有机氯、拟除虫菊酯和氨基甲酸酯类农药多残留的测定(农业部行业标准)[S]. 北京: 中国标准出版社, 2008.

[2] 韩梅, 杨晓风, 易盛国. 毛细管短柱气相色谱法测定辛硫磷等有机磷农药残留[J]. 西南农业学报, 2009(2): 227-229.

[3] 李荣玉, 吴小毛, 李明. 植烟土壤及烟叶中辛硫磷残留量分析方法[J]. 山地农业生物学报, 2009, 28(6): 556-558.

[4] 戴琳, 徐锦忠, 丁涛, 等. 高效液相色谱-电喷雾串联质谱法测定蔬菜中虫酰肼和甲氧虫酰肼残留[J]. 分析化学研究简报, 2008, 36(1): 87-90.

[5] 沈菁, 刘军, 陈平, 等. 液相色谱-质谱法测定土壤和甘蓝中的虫酰肼残留[J]. 湖北农业科学, 2009, 48(2): 442-444.

[6] 董静, 宫小明, 张立, 等. QuEChERS-高效液相色谱法检测蔬菜中的吡虫啉、虫酰肼、阿维菌素和噻螨酮[J]. 分析试验室, 2008, 27(3): 91-94.

[7] 徐国锋, 李静, 李海飞, 等. 气相色谱法测定水果中辛硫磷的残留[J]. 浙江农业科学, 2008(5): 540-543.

[8] 周瑶敏, 王冬根, 戴廷灿, 等. 用毛细管气相色谱法测定蔬菜中的辛硫磷[J]. 江西农业学报, 2005, 17(4): 52-55.

[9] SUNDARAM K M S, NOTT R, LEWIN E E. Comparative Study of the Determination of Tebufenozide in Formulated Products by Gas Chromatographic and Liquid Chromatographic Methods[J]. Chromatography A, 1994, 687(2): 323-332.

[10] 贺敏, 戴荣彩, 余平中, 等. 小麦和土壤中辛硫磷残留的高效液相色谱分析方法研究[J]. 华北农学报, 2008, 23(2): 210-213.

[11] 王勇, 周宏琛, 闫秋成, 等. 高效液相色谱法测定浓缩胡萝卜汁中辛硫磷残留量[J]. 分析试验室, 2006, 25(6): 81-83.

[12] 章虎, 吴俐勤, 谢磊, 等. 高效液相色谱法测定甘蓝、青菜和番茄中虫酰肼、甲氧虫酰肼和呋喃虫酰肼残留[J]. 现代科学仪器, 2006(3): 55-58.

[13] ROTICH H K, 张卓勇, 赵进英, 等. 环境水中甲基对硫磷、对硫磷和辛硫磷农药残留的SPE-HPLC分析[J]. 分析测试学报, 2002, 21(5): 50-53.

[14] 农业部农药检定所. NY/T 788—2004. 农药残留试验准则(农业部行业标准)[S]. 北京: 中国标准出版社, 2004.

[15] 岳永德. 农药残留分析[M]. 北京: 中国农业出版社, 2004: 75-76.

责任编辑：李新

(上接第911页)

试验结果表明施药次数和质量浓度与残留量呈显著正相关性，70%甲基硫菌灵可湿性粉剂随施药次数增多和施药质量浓度增高，残留量水平增高；按照常规和加倍剂量(125、250 mg/L)喷施70%甲基硫菌灵可湿性粉剂，虽然可有效防治芝麻上的病害，但对于无公害芝麻的生产却产生了极不利影响。同时根据我国农药安全使用准则，推荐70%甲基硫菌灵可湿性粉剂使用125 mg/L[15]，因此在实际生产中必须降低其施药剂量。依据芝麻在高温多雨条件下生长的特点和无公害芝麻生产的要求，70%甲基硫菌灵可湿性粉剂的使用，应注意以下几方面：建议施药剂量为80~100 mg/L，芝麻生长期施药应每隔6~8 d施药1次，施药2~3次，收获后对芝麻应进行及时晾晒，以加速残留药剂分解[16]。

参考文献：

[1] 李桂华, 王瑞雪, 王婷婷. 河南省黑芝麻及其油脂组成成分分析研究[J]. 河南工业大学学报(自然科学版), 2008, 29(5): 10-13.

[2] 王瑞元. 开拓创新, 推动芝麻产业的发展[J]. 中国油脂, 2007, 32(1): 7-8.

[3] 杨修身, 杨永东, 薛香云, 等. 芝麻叶斑病、茎点枯病的发生对产量的影响[J]. 河南农业科学, 1990(6): 15-19.

[4] 曹爱华, 李义强, 徐光军, 等. 高效液相色谱法同时测定烟草中吡虫啉、多菌灵、甲基硫菌灵的残留量[J]. 中国烟草科学, 2009, 30(1): 31-34.

[5] 李红霞, 陆悦健, 周明国. 苯并咪唑类杀菌剂的研究进展[M]//周明国. 中国植物病害化学防治研究. 北京: 中国农业科学技术出版社, 2002: 24-32.

[6] 中华人民共和国卫生部, 中国国家标准化管理委员会. GB/T 5009.188—2003. 蔬菜、水果中甲基托布津、多菌灵的测定[S]. 北京: 中国标准出版社, 2003.

[7] 孙丽华, 周彦刚. 反相离子对HPLC法测定中药材中苯并咪唑类农药残留的研究[J]. 中国卫生检验杂志, 2007, 17(1): 6-7, 57.

[8] 牟仁祥, 谢绍军, 闵捷. PSA分散固相萃取和离子对液相色谱测定蔬菜中苯并咪唑类残留的研究[J]. 分析测试学报, 2008, 27(3): 280-283.

[9] ZHAO Li-mian, SCHULTZ D, STEVENS J. Evaluation of the QuEChERS AOAC Sample Preparation Kit for the Analysis of Pesticide Residues in Apples with LC/MS/MS Detection[EB/OL]. Agilent Technologies Publication 5990-3937EN. (2009-08-16) http://www.agilent.com/chem/cn.

[10] 张志恒. 农药合理使用规范和最高残留限量标准[M]. 北京: 化工工业出版社, 2007: 122-123, 213-214.

[11] 赵慧芹. 三种杀菌剂在鸭梨果实中的降解动态及残留量研究[D]. 石家庄: 河北农业大学, 2005: 16.

[12] 牛玉宏. 多菌灵和甲基硫菌灵在平菇中残留动态研究[D]. 合肥: 安徽农业大学, 2009: 26.

[13] 中华人民共和国农业部. NY 5355—2007. 无公害食品芝麻[S]. 北京: 中国标准出版社, 2007.

[14] 单国民, 钱传范. 甲基托布津在小麦和土壤中的降解与残留研究[J]. 植物保护学报, 1992, 19(1): 91-96.

[15] 中华人民共和国农业部, 中华人民共和国国家技术监督局. GB 8321.4—1993. 农药合理使用准则(四)[S]. 北京: 中国标准出版社, 1993.

[16] 陈捍军, 龚伦香. 芝麻主要病害及其防治技术[J]. 农村经济与科技, 2010, 21(6): 151, 144.

责任编辑：李新

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net