

◆ 环境与残留 ◆

草莓中四螨嗪残留反相高效液相色谱法测定

赵善仓¹, 赵领军², 毛江胜¹, 邓立刚¹, 赵平娟¹

(1. 农业部食品质量监督检验测试中心(济南), 济南 250100; 2. 济南市农业信息中心, 济南 250100)

摘要: 采用丙酮提取, 正己烷萃取, SPE 氨基小柱净化, 反相 HPLC-UV 检测法测定草莓中残留四螨嗪。对样品预处理和高效液相色谱条件进行优化。标准曲线的线性范围 0.5~100 µg/mL。样品加标回收率为 92.4%~98.6%, 相对标准偏差 2.5%~3.9%。采取甲醇-0.5%乙酸水(体积比 75:25)流动相的最佳条件。该法灵敏准确, 适用于草莓中农药残留四螨嗪的检测。

关键词: 四螨嗪; 高效液相色谱法; 草莓; 农药残留; 固相萃取

中图分类号: TQ 450.2+63 文献标识码: A 文章编号: 1671-5284(2007)02-0039-02

Determination of Clofentezine Residues in Strawberry by Reversed High Performance Liquid Chromatography

ZHAO Shan-cang¹, ZHAO Ling-jun², MAO Jiang-sheng¹, DENG Li-gang¹, ZHAO ping-juan¹,

(1. Inspection Center of Food Quality (Jinan) Ministry of Agriculture, Jinan 250100, China; 2. Jinan City Agriculture Information Center, Jinan 250100, China)

Abstract: A high performance liquid chromatographic using UV (HPLC-UV) detection was developed for determination of clofentezine residues in strawberry. Chromatographic condition and sample pretreatment methods were optimized. The column used was Symmetry ShieldTM RP18 (250 mm×4.6 mm×5 µm) with methanol-0.5% aqueous acetic acid (75:25, V/V) as mobile phase. The average recoveries were between 92.4% and 98.6% and relative standard deviations between 2.5% and 3.9%. The methods is simple, rapid, accurate, sensitive and reproducible.

Key words: clofentezine; high performance liquid chromatographic; strawberry; pesticide residues; SPE

四螨嗪(英文通用名: clofentezine)属于有机氮杂环类、低毒杀螨剂, 对害螨具有触杀作用, 属长效、高效杀卵剂, 用于防治苹果全爪螨、柑橘锈螨等植物螨害, 现在已广泛应用于水果蔬菜螨害的防治^[1-3]。但其在水果蔬菜中的残留日益受到重视, 其使用不当或残留量过高会带来严重的食品安全问题, 甚至威胁到人类的身体健康。我国尚未制定水果蔬菜中四螨嗪最大允许限量及标准的检测方法。欧盟2002年10月规定在水果蔬菜以及茶叶中的MRL为0.05 mg/kg; 美国环保署2005年规定杀螨剂四螨嗪在作物体内或表面的最高残留限量为: 葡萄

1.0 mg/kg、柿子0.05 mg/kg。

目前关于四螨嗪农药原药的检测方法有气相色谱法和液相色谱法^[4], 但由于四螨嗪在水果和蔬菜中的残留量低, 而共存的干扰物很多, 因此四螨嗪残留检测中, 提取和净化是十分重要的步骤。一般采取有机溶剂或有机溶剂-水体系提取, 净化的方法主要有液-液萃取、SPE 固相萃取等。目前国内对于该农药在水果蔬菜中的残留检测方法鲜有报道。本文采用丙酮提取, 正己烷萃取, SPE 氨基小柱净化-高效液相色谱法测定四螨嗪在草莓中的残留量, 该方法操作简单, 灵敏度、精密度和回收率较

收稿日期: 2006-06-19; 修回日期: 2007-02-05

作者简介: 赵善仓(1972-), 男, 山东平邑人, 在读博士, 助理研究员, 主要从事食品中农药残留的检测工作。

Tel: 0531-83178203; E-mail: shancangzhao@126.com.

好,为今后的农药残留测定及蔬菜出口提供一方便可靠的检测方法。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

Waters 高效液相色谱仪, PDA 二极管阵列检测器; IKA - WERLE T25BS2 高速匀浆机; 德国 Heidolph 旋转蒸发仪; Sigma 3K30 高速离心机; Waters 公司的氨基柱、 C_{18} 柱和 Oasis HLB 固相萃取柱。

四螨嗪标准品 (纯度 99.4%, 美国 sigma 公司); 甲醇 (色谱纯, fisher 公司); 超纯水; 正己烷、氯化钠、丙酮、无水硫酸钠 (分析纯)。

1.2 实验方法

1.2.1 色谱条件

色谱柱为 Symmetry ShieldTM RP 18 不锈钢柱 (4.6 mm×250 mm×5 μ m); 流动相为甲醇 - 0.5% 乙酸水 (体积比 75:25); 柱温为 30℃; 流速 1.0 mL/min; 检测波长: 268 nm; 进样量: 20 μ L。在上述色谱条件下, 四螨嗪的保留时间为 13.3 min。

1.2.2 标准溶液的配制

准确称取 10 mg 四螨嗪标准品于 100 mL 棕色容量瓶中, 用甲醇溶解后定容, 此时的标准储备液浓度为 100 μ g/mL, 使用前用流动相稀释成 1 μ g/mL 的标准使用液。

1.2.3 样品制备

1.2.3.1 样品处理

称取样品 10.0 g 于 80 mL 离心管, 加 40 mL 丙酮, 高速匀浆 1 min, 离心, 取上清液倒入分液漏斗。再加 40 mL 重复操作, 合并上清液于分液漏斗, 加入 100 mL 5% NaCl 水溶液和 40 mL 正己烷, 振摇, 静止分层。下层水相转入另一分液漏斗中, 水相用 40 mL 正己烷再萃取一次, 合并正己烷相, 用无水 Na_2SO_4 脱水, 过滤于 250 mL 平底烧瓶中, 旋转蒸发, 浓缩至干。

1.2.3.2 样品净化

将氨基柱用 4.0 mL 甲醇 - 二氯甲烷 (体积比 1:99) 预淋洗活化, 加入样品溶液, 开始收集, 用 4 mL 甲醇 - 二氯甲烷 (体积比 1:99) 洗脱液洗脱, 收集全部的洗脱液。将洗脱液氮气吹干后, 用 2 mL 甲醇定容, 过 0.2 μ m 滤膜过滤, 待测。

2 结果与讨论

2.1 样品提取条件的选择及固相萃取柱选择

分别用丙酮 - 5% 氯化钠溶液 - 正己烷液液萃取方法和用乙腈提取法提取样品, 结果表明两种方法提取效果都比较好, 其中以丙酮 - 5% 氯化钠溶液 - 正己烷方法提取效果最好, 故本方法选用丙酮 - 5% 氯化钠溶液 - 正己烷作为提取剂。由于草莓具有较多的色素, 干扰成分较多, 使用活性炭对目标物的吸收性较强, 故采用了固相萃取小柱, 分别选用了色素吸附性较强的氨基柱和常用的 C_{18} 柱、OASIS HLB 柱。结果表明, 氨基柱的净化效果最好, C_{18} 柱和 OASIS HLB 柱对色素的吸附性较弱, 回收率较氨基柱稍低。

2.2 色谱条件的确定

使用 PDA 二极管阵列检测器对四螨嗪进行光谱扫描, 找出其最大吸光值为 268 nm; 分别以不同体积比例的甲醇 - 乙酸水做流动相试验, 试验结果表明, 当甲醇 - 乙酸水的比例在 75:25 时, 样品中的四螨嗪同杂质能够得到较好的分离度。标准溶液、样品和样品添加的色谱图见图 1。

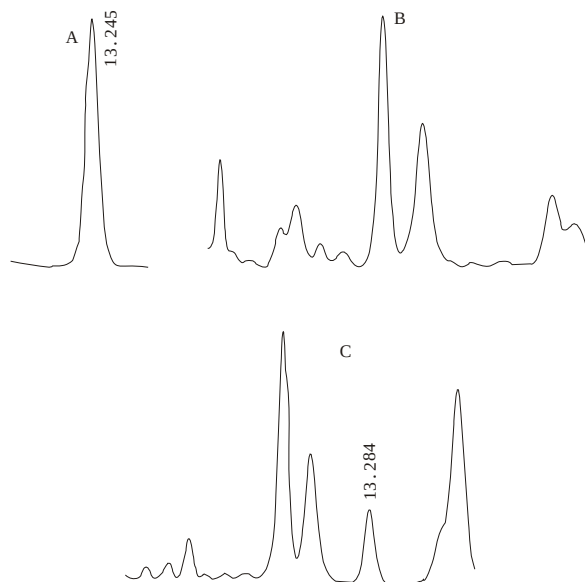


图 1 标准品 (A)、草莓空白对照 (B) 和草莓添加回收率 (C) 的色谱图

2.3 线性范围及检出限

以配制好的一系列不同浓度的标样, 采用外 (下转第 48 页)

2.3 测产结果

2.3.1 对油菜产量因素的影响

经考种可知, 12%烯草酮 EC 对油菜的单株分

枝数、有效角果数、每角粒数、千粒重都有一定的影响, 与对照区相比差异显著, 见表 3。

表 3 12%烯草酮 EC 测产结果

处理/(ml/667m ²)	单株分枝数	有效角果数	每角粒数	千粒重/g	小区理论测产/kg					增产率/%	
					平均	I	II	III	IV		
12%烯草酮 EC 30	9.9	345.6	20.6	3.3	140.9	141.0	143.2	138.6	140.9	cB	36.9
12%烯草酮 EC 35	10.2	349.9	20.8	3.4	148.1	150.5	146.3	149.2	148.5	abB	44.3
12%烯草酮 EC 40	10.3	350.3	21.2	3.4	150.6	152.3	155.1	148	151.5	aA	47.2
12%烯草酮 EC 70	10.5	357.6	21.0	3.3	148.7	145.7	153.2	147.3	148.7	abA	44.5
12%收乐通 EC 35	10.2	348.5	20.9	3.4	148.6	146.8	151.7	147.4	148.6	abA	44.4
人工除草	9.8	347.4	20.9	3.4	147.2	145.8	151.4	148.1	148.1	bA	43.9
CK	7.2	301.4	18.4	3.1	103.7	100.8	105.4	101.5	102.9	dC	—

2.3.2 对产量的影响

12%烯草酮 EC 30、35、40、70 mL/667 m² 与清水对照相比增产效果都很明显, 增产幅度分别为 36.9%、44.3%、47.2%、44.5%, 对照药剂 12%收乐通 EC 70 mL/667 m² 为 44.4%。在试验剂量范围内, 与清水对照相比, 增产幅度都显著。

3 小结

1) 12%烯草酮 EC 在油菜移栽活棵后茎叶处理, 对油菜生长及结荚均无不良影响, 安全性好。对油菜田常见的禾本科杂草如看麦娘、蔺草防治效果好, 药后 60 d, 12%烯草酮 EC 30 mL/667 m² 的防效仍可达 91.4%, 具有较好的推广应用前景。

2) 12%烯草酮 EC 防除油菜田禾本科杂草, 用

量在 30~40 mL/667 m² 均能达到较好的防除效果, 用药时间最好掌握在禾本科杂草分蘖期以前。如果禾本科杂草草龄较小用低量, 如果草龄较大用高量。在推荐剂量下, 与不施药区相比, 增产效果显著。

3) 12%烯草酮 EC 对阔叶杂草无效, 如果田间单、双子叶杂草混生, 应与其它除草剂混用, 并先进行小面积试验。

参考文献

- [1] 农业部农药检定所生测室. 农药田间药效试验准则 (一) [M]. 北京: 中国标准出版社, 2000: 194 - 196.
- [2] 马奇祥, 赵永谦. 农田杂草识别与防除原色图谱 [M]. 北京: 金盾出版社, 2005: 175 - 186.

(上接第 40 页)

标法定量, 以四螨嗪的峰面积 A 为纵坐标、四螨嗪的质量浓度 (C, $\mu\text{g/mL}$) 为横坐标得标准曲线: $Y=4\ 849.1\ X+45\ 435.2$, $r=0.999\ 8$, 质量浓度在 0.50~100 $\mu\text{g/mL}$ 范围内, 峰面积与其具有良好的线性关系。最低检出限为 0.05 mg/kg。

2.4 回收率和精密度试验

在空白草莓中分别添加了 4.95, 8.9, 17.8 $\mu\text{g/mL}$ 四螨嗪标准溶液 1 mL, 每个质量浓度水平测定 6 次, 其平均回收率分别为 92.4%, 95.3%, 98.6%, 其相对标准偏差分别为 3.9%, 2.5%, 3.1%。

3 结论

该方法有效地除去了草莓中干扰的杂质, 其精

密度和回收率可满足四螨嗪在草莓中的残留分析要求。

参考文献

- [1] 张红艳, 杨云媛. 防治大棚草莓叶螨药效试验 [J]. 天津农林科技, 2005, (4): 6 - 7.
- [2] 毛国忠, 应晓平, 汪国强, 等. 草莓二点叶螨的无公害治理技术 [J]. 上海蔬菜, 2005, (2): 50 - 51.
- [3] 顾景文, 刘唱勇, 张广水, 等. 20%螨死净水悬浮剂 [J]. 落叶果树, 1994, 26 (1): 26 - 27.
- [4] Navickiene S, Ribeiro M L. Determination of Fluquinconazole, Pyrimethanil, and Clofentezine Residues in Fruits by Liquid Chromatography with Ultraviolet Detection [J]. Journal of AOAC International, 2004, 87 (2): 435 - 438.