

◆ 环境与残留 ◆

高效液相色谱法测定黄瓜中烯酰吗啉和 腈菌唑农药残留

李二虎, 胡 敏, 吴兵兵, 张 强, 张 武, 国淑英

(农业部农药质量监督检验测试中心(天津), 天津 300061)

摘要: 采用乙腈提取黄瓜中的烯酰吗啉和腈菌唑农药残留, 用氟罗里硅土固相萃取小柱进行柱净化, 高效液相色谱可变波长紫外检测器 (220 nm) 进行测定, 烯酰吗啉和腈菌唑回收率分别为 99.71% ~ 105.61% 和 100.45% ~ 101.80%, 变异系数均小于 10%, 最低检出浓度分别为 0.01 mg/kg 和 0.03 mg/kg。

关键词: 高效液相色谱; 烯酰吗啉; 腈菌唑; 残留

中图分类号: TQ 450.2⁺63 文献标识码: A 文章编号: 1671-5284(2007)04-0038-02

Determination of Residues of Dimethomorph and Myclobutanil in Cucumber by High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

LI Er-hu, HU Min, WU Bing-bing, ZHANG Qiang, ZHANG Wu, GUO Shu-ying

(Supervise and Test Center for Pesticide of Ministry of Agriculture (Tianjin), Tianjin 300061, China)

Abstract: The residues of dimethomorph and myclobutanil in cucumber were extracted with acetonitrile and cleaned up with florisil Solid-Phase Extraction (SPE) column. The analytes were quantitated by high-performance liquid chromatography (HPLC) equipped with Variable Wavelength Detector (VWD) on 220nm wavelength. The average recoveries of dimethomorph and myclobutanil ranged from 99.71% to 105.61% and 100.45% to 101.62%, separately. The relative standard deviations were less than 10%. The limit of detection of dimethomorph and myclobutanil were 0.01 mg/kg and 0.03 mg/kg, respectively.

Key words: high-performance liquid chromatography (HPLC); dimethomorph; myclobutanil; residue

腈菌唑是一种内吸、广谱性杀菌剂, 属麦角甾醇类生物合成抑制剂, 具有高效、低毒、内吸、广谱等特点, 可用于茎叶喷洒、种子处理、土壤处理等, 对白粉病特别有效, 其单剂和混配制剂常用于黄瓜白粉病的防治。烯酰吗啉于 20 世纪 90 年代中进入我国市场, 对藻状菌的霜霉和疫霉属真菌有独特的作用方式, 能够破坏细胞壁膜的形成。由于其防治效果好, 又与苯胺类杀菌剂无交互抗性, 且具有低毒等优点, 应用量也越来越大, 现已成为黄瓜上防治黄瓜霜霉的主要农药品种。腈菌唑和烯酰吗啉目前已广泛使用, 但还没有相应的农药残留检测标准, 本法建立了黄瓜中

同时检测烯酰吗啉和腈菌唑残留量的方法, 实用效果好。

1 实验部分

1.1 试剂

烯酰吗啉 (dimethomorph), 纯度 ≥ 98%; 腈菌唑 (myclobutanil), 纯度 ≥ 98%; 分别用甲醇配置为 5 mg/L, 备用。丙酮、正己烷均为分析纯, 经重蒸馏处理后使用; 甲醇、乙腈均为 HPLC 级; 氯化钠, 分析纯, 650 °C 烘烤 2 h; 水为纯净水, 使用前用 0.45 μm 滤膜过滤; 氟罗里硅土固相萃取柱 (1000 mg, 6 mL)。

收稿日期: 2006-08-28

作者简介: 李二虎 (1975—), 男, 陕西府谷人, 农艺师, 硕士, 主要从事农药残留检测工作。Tel: 022-28032293, 28032722; E-mail: lehjh@tom.com

1.2 仪器

Agilent 1100 液相色谱仪, 配可变波长紫外检测器 (VWD), SB-C₁₈ 柱 (4.0 mm × 250 mm, 5 μm), 自动进样器, 化学工作站, T 25 分散器, 旋转蒸发仪。

1.3 实验步骤

1.3.1 提取

准确称取 20.0 g 黄瓜试样, 加入乙腈 50 mL, 用 T 25 分散器匀浆 2 min, 过滤 (滤斗中加入 6 g 左右氯化钠), 剧烈摇动约 2 min, 静置约 10 min, 量取上层乙腈相 25 mL, 用旋转蒸发仪浓缩至少量 (约 2 mL)。

1.3.2 净化

先用正己烷 10 mL 预淋固相萃取小柱, 将以上浓缩液加入柱中, 用 10 mL V(正己烷) V(丙酮) = 9 : 1 洗脱, 再用 5 mL V(正己烷) V(丙酮) = 7 : 3 洗脱, 将滤液合并, 用氮气吹至近干, 用甲醇定容至 5 mL, 过 0.25 μm 滤膜, 待液相色谱分析。

1.4 液相色谱条件

色谱柱: SB-C₁₈ 柱 (4.0 mm × 250 mm, 5 μm); 流动相 V(乙腈) V(水) = 60 : 40, 流速 1.0 mL/min; 可变波长紫外检测器吸收波长为 220 nm; 进样量: 10 μL, 运行时间: 12 min。

2 结果与讨论

2.1 分析方法中线性关系的测定

在上述色谱条件下, 采用外标法定量, 以甲醇为溶剂, 烯酰吗啉和腈菌唑配制 0.05 ~ 5 mg/L, 测定各浓度相对应的峰面积, 结果表明, 两种农药的浓度 X 和峰面积 Y 有很好的相关性, 满足定量分析的需要, 回归方程和相关系数见表 1。

表 1 烯酰吗啉和腈菌唑浓度和峰面积的相关性

农药	回归方程	相关系数
烯酰吗啉	$Y = 52.729 X + 0.216$	0.999 99
腈菌唑	$Y = 25.942 X - 1.042$	0.999 91

2.2 准确度和精密度

在黄瓜中添加烯酰吗啉和腈菌唑进行回收率实验, 添加量为 0.1、0.5、2.0 mg/kg, 每个浓度 3 个重复, 取得较好的结果, 烯酰吗啉回收率在 99.71% ~ 105.61% 之间, 腈菌唑回收率在 100.45% ~ 101.62% 之间, 变异系数均在 10% 以下 (见表 2)。

表 2 黄瓜中烯酰吗啉和腈菌唑的添加回收率实验结果

农药名称	添加量/mg·kg ⁻¹	平均回收率/%	相对标准偏差/%
烯酰吗啉	0.1	105.61	3.32
	0.5	101.67	4.07
	2.0	99.71	1.23
腈菌唑	0.1	101.80	0.62
	0.5	101.62	6.94
	2.0	100.45	1.36

2.3 最低检出限

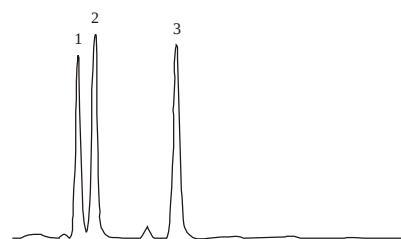
按照 $S/N=3$ 计算, 黄瓜中烯酰吗啉的最低检出浓度为 0.01 mg/kg, 最低检出量为 2×10^{-10} g。腈菌唑则分别为 0.03 mg/kg 和 6.0×10^{-10} g。

2.4 讨论

1) 本法采用国际和国内最常用的提取溶剂乙腈^[1-2], 提取效率高, 而且很容易和水相分离, 使得提取和净化过程比使用其他溶剂提取相对简单。

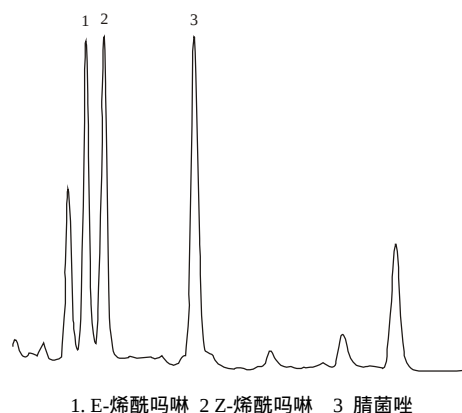
2) 在添加回收实验中, 由于烯酰吗啉和腈菌唑性质相差大, 采用两种洗脱液进行洗脱效果好, 洗脱液使用量少, 而且尽量减少了杂质峰的干扰。

3) 本法采用固相萃取小柱净化的方法, 比其他萃取法净化时间短, 而且节省了试剂的使用量, 灵敏度也有很大提高, 能够满足黄瓜中烯酰吗啉和腈菌唑残留检测的要求, 实用性好。



1. E-烯酰吗啉; 2. Z-烯酰吗啉; 3. 腈菌唑

图 1 烯酰吗啉和腈菌唑标样色谱图



1. E-烯酰吗啉 2. Z-烯酰吗啉 3. 腈菌唑

图 2 黄瓜中添加回收实验色谱图

(下转第 49 页)

分析的方法准确度能满足分析的需要。

通过对千分之几的低含量甲维盐·柴油乳油分析, 本方法的精密度较好, 变异系数为 4.94%, 一般小于 10%, 可满足低含量甲维盐的定量分析。

4 讨论

1) 从图 3 看, 甲维盐成分中的 b_{1a} 、 b_{1b} 在文中的色谱条件下同时出峰, 为单一色谱峰, b_{1a} 、 b_{1b} 是不能分离的, 因此不推荐用本方法对甲维盐原药和其它剂型进行定量分析, 本方法仅适用于生产甲维·柴油乳油的企业, 作为监测产品质量的方法。其过程应该是: ① 对制剂用的原药进行反相高效液相色谱定量分析, 求出甲维盐 b_{1a} 、 b_{1b} 的各自峰面积, 以此求出甲维盐 b_{1a}/b_{1b} 值; ② 用此原药的提纯品对制剂进行定量分析; ③ 保留、标记每批原药的提纯品, 并记录对应的制剂, 以备对制剂等定量分析时用。应该特别指出: 本方法不能应用于市场、质检部门的定量分析, 除非生产厂家能够提供生产制剂时的原药提纯品。

2) 甲维盐属于大环内酯大分子化合物, 在正相高效液相色谱中, 用一般的少量极性溶剂是不能将其洗脱下来的。作者曾使用 $V(\text{石油醚}):V(\text{乙醇}):V(\text{甲醇})=80:15:5$ 为流动相, 不能很好的将甲维盐洗脱出来; 使用 $V(\text{二氯甲烷}):V(\text{甲醇})=95:5$ 作为流动相时, 出峰很快, 但峰的保留时间太短, 制剂中的杂质分离差, 重复性也不好。此外作者还试验过石油醚、二氯甲烷和甲醇不同的配比作流动相, 出峰也不好, 只有使用氰基键合相色谱柱、正己烷与 12% 的甲醇和乙醚极性溶剂作流动相, 甲维盐出峰保留时间适中 (约 8 min), 峰形好, 并且不受柴油成分峰的影响。

在正相氰基键合相的条件下, 作者曾用不同极性的溶剂, 如异丙醇、四氢呋喃、乙酸乙酯、乙腈等和正己烷的不同配比组合, 均不能将甲维盐成分

中的 b_{1a} 、 b_{1b} 成分分离。因此, 甲维盐成分中 b_{1a} 、 b_{1b} 成分的分离, 还应使用反相高效液相色谱法。

3) 在本文条件下, 经作者测定, 0 号柴油的全部成分均在甲维盐出峰前出完 (见图 5), 对甲维盐分析无影响。

4) 据胡晓敏等^[2]紫外光谱扫描测定, 甲维盐紫外吸收光谱最大在 245 nm 处, 有条件应采用此检测波长, 以提高检测灵敏度。

5) 在正相色谱 HPLC 的条件下, 有时某些乳化剂的杂质峰也可能影响分析定量, 所以必要时应对乳化剂进行分析, 尽量减少其影响。

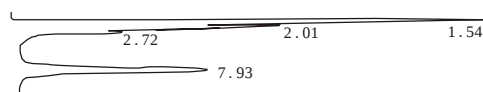


图 3 甲维盐标样色谱图

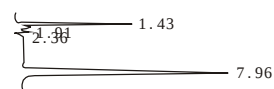


图 4 甲维·柴油油色谱图



图 5 0 号柴油乳油色谱图

参考文献

- [1] 河北威远生物化工股份有限公司. 新农药介绍 [J]. 农药科学与管理, 2001, 22 (1): 47.
- [2] 胡晓敏, 费国良, 王介庆. HPLC 法测定甲氨基阿维菌素苯甲酸盐 [J]. 兽药与饲料添加剂, 2001, 6: 13 - 14.
- [3] 毕富春, 赵建平. 高效液相色谱法定量分析甲氨基阿维菌素苯甲酸盐 [J]. 农药科学与管理, 2003, 24 (3): 13 - 14.
- [4] 毕富春, 吴国旭. 高效液相色谱法定量分析甲维·柴油油中的甲维盐 [J]. 农药科学与管理, 2004, 25 (9): 3 - 5.
- [5] NY/T 761 - 2004. 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检测方法 [S].
- [6] 全国农药残留试验研究协作组. 农药残留量实用检测方法手册 (第 2 卷) [M]. 北京: 化学工业出版社, 2001: 179 - 181.
- [7] 朴秀英, 吴凌云, 邹积鑫, 等. 烯酰吗啉在土壤中残留测定方法研究 [J]. 农药科学与管理, 2006, 27 (1): 7 - 9.
- [8] 慕卫, 陈召亮, 杨连来, 等. 烯唑醇、三唑醇和腈菌唑的 GC 和 HPLC 分析方法 [J]. 现代农药, 2005, 4 (6): 17 - 19.

(上接第 39 页)

参考文献

- [1] Michelangelo Anastassiades, Steven J Lehotay, Frank J Schenck. Fast and Easy Multiresidue Method Employing Acetonitrile Extraction/partitioning and "Dispersive Solid-phase Extraction" for the Determination of Pesticide Residues in Produce [J]. Journal of AOAC International, 2003, 86 (2): 412 - 431.