

高效液相色谱法测定黄瓜中吡虫啉和啉霉胺残留量

高蓉 赵人琤 肖杭

(南京医科大学公共卫生学院卫生检验系 南京 210029)

摘要 本文报道了黄瓜中吡虫啉和啉霉胺残留量高效液相色谱分析方法。黄瓜样品在乙腈中匀浆,过滤后用二氯甲烷萃取,提取残留的吡虫啉和啉霉胺。在同一波长下,用 ZORBAX ,Eclipse XDB-C₁₈ 液相色谱柱,以不同比例的乙腈和水进行梯度洗脱,同时分析吡虫啉和啉霉胺。对吡虫啉和啉霉胺添加回收率分别为 82.66%~91.73%和 92.76%~104.82%,最低检出限分别为 0.04 mg/kg 和 0.03 mg/kg。

关键词 黄瓜 吡虫啉 啉霉胺 残留 高效液相色谱

随着保护地蔬菜种植面积的不断扩大,病虫害发生越来越重,农药的使用量逐年增加,加之蔬菜生产周期短,蔬菜中农药残留量超标已成为消费者关心的主要问题。吡虫啉和啉霉胺是蔬菜生产过程中普遍使用的两种农药,吡虫啉主要用于防治蚜虫、叶蝉、蓟马等刺吸式口器害虫,啉霉胺主要用于蔬菜灰霉病的防治。近年来,吡虫啉和啉霉胺在蔬菜上的使用量逐年增加,两者在蔬菜中的残留问题也逐渐得以重视,日本、美国、欧盟等相继对蔬菜中啉霉胺和吡虫啉最高残留限量进行了规定^[2]。目前报道的啉霉胺残留量分析方法有气相色谱法(NPD检测器)^[3-5]和气(液)质联用^[6]等,吡虫啉残留量分析方法主要为液相色谱法^[7-8],但同时分析两者在蔬菜中的残留的方法还没有见报道。我们采用高效液相色谱法进行了黄瓜中吡虫啉和啉霉胺残留量同时分析方法的研究。

1 材料与方法

1.1 试验材料

仪器:高效液相色谱仪(HP1100 带可变波长紫外检测器)、旋转浓缩仪(Labsystem)、调速式高速分散器(CF-1,江苏省海门市麒麟医用仪器厂生产)、十万分之一电子天平(OHAUS)和紫外/可见/近红外分光光度计(Perkin-Elmer, Lambda 800/900)。

试剂:乙腈、二氯甲烷、氯化钠和无水硫酸钠等均为分析纯;甲醇为液相色谱纯,水为超纯水;

啉霉胺标准品由江苏省常州市丰登农药厂提供,含量>98.5%;吡虫啉标准品从农业部农药检定所购买,含量>99.0%。

1.2 标准溶液的配制

啉霉胺标准溶液配制:准确称取啉霉胺标准品 6.28×10^{-3} g,用甲醇溶解并定容至 25 mL,得浓度为 247.43 mg/L 的啉霉胺储备液,保存于 4℃ 冰箱中。

吡虫啉标准溶液配制:准确称取吡虫啉标准品 6.08×10^{-3} g,用甲醇溶解并定容至 25 mL,得浓度为 240.77 mg/L 的吡虫啉储备液,保存于 4℃ 冰箱中。

混合标样溶液配制:分别称取啉霉胺标准溶液和吡虫啉标准溶液各 10 mL 至 50 mL 容量瓶中,用甲醇定容至刻度,得啉霉胺和吡虫啉浓度分别为 49.47 mg/L 和 48.15 mg/L。测定时用甲醇稀释成系列浓度的混合标样使用溶液。

1.3 黄瓜样品前处理

称取 20 g 切碎的黄瓜样品,加乙腈 50 mL,高速分散器匀浆 2 min 后,真空抽滤,收集滤液,加饱和氯化钠水溶液 20 mL,摇匀后静置分层,收集乙腈相。水相分别用 50、25 和 25 mL 二氯甲烷 3 次萃取。合并二氯甲烷和乙腈液,过无水硫酸钠柱干燥后,于 45℃ 下减压浓缩至干。然后用乙腈分次洗涤残余物至刻度试管内,并准确定容至 5 mL,过 0.45 μm 的微孔滤膜后进行液相色谱测定,外标法进行定性和定量分析。

收稿日期:2004-08-03

作者简介:高蓉(1973—),女,博士,讲师,主要从事化学物质的杀虫生物活性及构效关系研究。

1.4 色谱条件

色谱柱: ZORBAX Eclipse XDB-C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, i.d, 5 μm); 梯度洗脱条件: 以乙腈和水的混合溶剂作流动相, 0~6.5 min, 乙腈:水=30:70, 6.5~8 min, 流动相比比例改变为乙腈:水=70:30, 8~15 min, 乙腈:水=70:30; 流速: 1.0 mL·min⁻¹; 检测波长: 269 nm; 进样量: 20 μL

1.5 回收率和精密度试验

在20 g空白黄瓜样品中分别加入不同浓度的嘧霉胺和吡虫啉混合标样, 每个加标浓度重复做3次, 所有加标样均按1.3方法同样处理, 供色谱测定用。计算添加回收率和精密度。

2 试验结果

2.1 检测波长确定

以甲醇作为空白进行校正, 测定吡虫啉和嘧霉胺标准溶液的紫外吸收光谱, 二者在269 nm处均有最大吸收, 因此选择269 nm处作为检测波长。

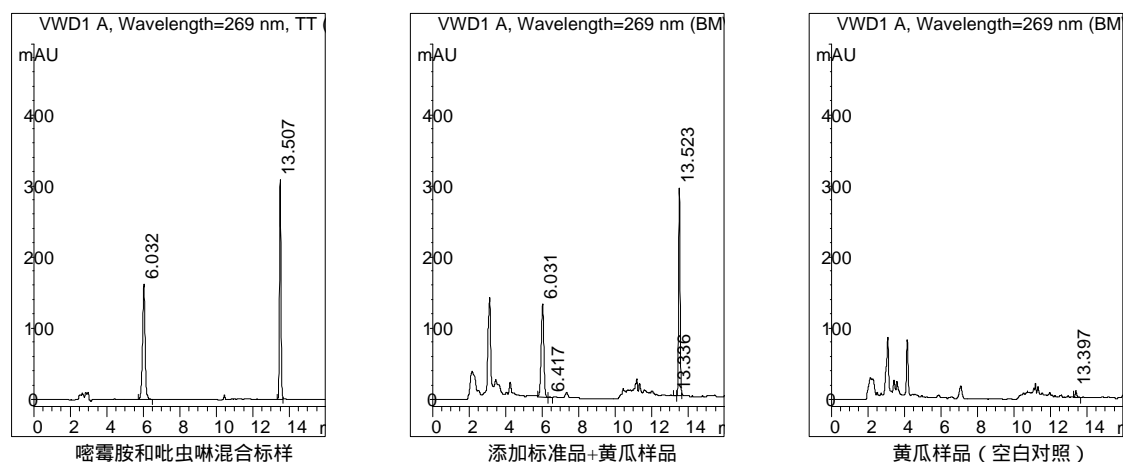
2.2 梯度洗脱条件的建立

在ZORBAX Eclipse XDB-C₁₈ (250 mm × 4.6

mm, i.d, 5 μm) 上, 对不同比例的乙腈+水混合流动相的分离效果进行比较, 综合考虑待测组分与杂质的分离效果和保留时间, 优选分离效果好、分析时间短的流动相。结果表明, 由于嘧霉胺和吡虫啉性质差异较大, 在同一比例的乙腈+水作流动相情况下, 很难一次出峰。当流动相中乙腈含量高于30%时, 吡虫啉保留时间短, 出峰太快, 与样品中杂质峰不易分开; 乙腈含量低于70%时, 嘧霉胺出峰慢, 影响分析速度和检测灵敏度; 当乙腈含量高于75%时, 杂质干扰嘧霉胺分析。基于上述实验结果, 建立了以不同比例的乙腈和水混合流动相进行梯度洗脱一次性分析黄瓜中嘧霉胺和吡虫啉残留量分析方法。

2.3 提取溶剂选择

按1.3的方法分别用丙酮、乙腈、二氯甲烷提取加标样品中的嘧霉胺和吡虫啉。结果表明: 二氯甲烷提取液杂质含量高; 丙酮提取液不易脱水, 影响浓缩效果。故选用乙腈作为提取溶剂。在选定的样品前处理方法及液相色谱分析条件下得到的混合标样及样品色谱图如图1。



吡虫啉 (6.03 min); 嘧霉胺 (13.5 min)

图1 残留量测定的液相色谱图

2.4 线性方程及最低检测限

在上述实验条件下, 吡虫啉标准品浓度在0.10~12.37 mg/L、嘧霉胺标准品浓度在0.08~12.04 mg/L范围内, 浓度(C)与峰面积(A)呈良好线性相关, 方程分别为: $A=92.40C+3.36$ 和 $A=113.25C+4.17$, 相关系数分别为0.99987和0.9999。

2.5 方法的准确度和精密度

空白黄瓜样品中分别添加嘧霉胺和吡虫啉混合标准样品, 每种农药添加3个浓度, 每浓度重复3

次, 按上述方法测定, 测定结果见表1。在该分析条件下, 黄瓜中吡虫啉和嘧霉胺的最低检测限分别为0.04 mg/kg和0.03 mg/kg。

3 结论

样品用乙腈提取, 二氯甲烷萃取净化, 在ZORBAX Eclipse XDB-C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, i.d, 5 μm) 上, 以不同比例乙腈和水混合流动相梯度洗脱, 269 nm波长下检测, 建立了黄瓜中吡虫啉和嘧

霉胺残留量的高效液相色谱分析方法。该方法简便、准确、快速, 符合农药残留分析的要求。

表 1 黄瓜中啉霉胺和吡虫啉残留量测定的回收率和精密度

添加浓度(mg/kg)	测定值 (mg/kg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	变异度 (%)
吡虫啉	4.46×10^{-2}	93.89	82.66	12.82
	4.75×10^{-2}	3.86×10^{-2}		
	3.46×10^{-2}	72.84		
	9.02×10^{-1}	92.51	89.89	4.11
	9.75×10^{-2}	8.94×10^{-2}		
	8.36×10^{-2}	85.74		
	3.77×10^{-1}	97.42	91.73	5.40
	3.87×10^{-1}	3.46×10^{-1}		
	3.42×10^{-1}	88.37		
	5.01×10^{-2}	104.11	104.82	8.26
啉霉胺	4.50×10^{-2}	4.93×10^{-2}		
	4.21×10^{-2}	93.56		
	9.76×10^{-2}	102.74	97.90	4.32
	9.50×10^{-2}	9.12×10^{-2}		
	9.02×10^{-2}	94.95		
	3.56×10^{-1}	94.93	92.76	3.57
	3.75×10^{-1}	3.54×10^{-1}		
	3.32×10^{-1}	88.95		

参考文献

- [1] 农业部农药检定所. 农药残留量实用检测方法手册 [M]. 北京: 中国农业科技出版社, 1995: 25~35.
- [2] 中国食品标准信息网. 各国食品中农药兽药最高残留限量标准 [EB/OL]. <http://www.cfsi.cn/demo/1.htm>, 2004-08-03
- [3] Vincenzo LG, Alberto A, Ana ADRI, *et al.* Disappearance of azoxystrobin, pyrimethanil, cyprodinil, and fludioxonil on tomatoes in a greenhouse [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2002, 50: 1929~1932.
- [4] Stanislaw S. Disappearance of pyrimethanil residues on tomato plants [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2002, 50: 1089~1091.

(上接第 20 页)

Determination of 10% Saizuolin WP Residue in Tomato and Soil

Yu Chuanzong He Bao

(Jiangsu Pesticide Research Institute Co. Ltd., Nanjing 210036 China)

Abstract: A method was developed to determine residue of saizuolin in tomato and soil by HPLC. The samples were

- [5] Giza I, Sztwiertnia U, Murawska M. Gas chromatographic determination of pyrimethanil and pyrimethanil residues in apples [J]. ACTA Chromatographica, 2001, 11: 37~41.
- [6] Ana AgÜera, Eva Almansa, Ana tejedor, *et al.* Photocatalytic pilot scale degradation study of pyrimethanil and of its main degradation products in waters by means of solid-phase extraction followed by gas and liquid chromatography with mass spectrometry detection [J]. Environ Sci Technol, 2000, 34: 1563~1571.
- [7] 楼建晴, 程敬丽, 朱国念. 吡虫啉在甘蓝上的残留动态 [J]. 农药, 2004, 43(1): 40~42
- [8] 戴华, 李拥军. 稻谷中吡虫啉农药残留量的固相萃取高效液相色谱测定分析 [J]. 测试学报, 2002, 21(1): 70~72
- [9] 陈道文, 杨春龙. 吡虫啉在蔬菜上的残留及动态研究 [J]. 农药, 1998, 37(4): 21~22

Determination of Pyrimethanil and Imidacloprid Residue in Cucumber by HPLC

Gao Rong Zhao Renzheng Xiao Hang

(Department of Hygienic Analysis & Detection, The School of Public Health of Nanjing Medical University, Nanjing 210029 China)

Abstract: The determination of pyrimethanil and imidacloprid residue in cucumber by HPLC were developed. The cucumber samples were homogenized with acetonitrile, diluted with saturated NaCl water and re-extracted with dichloromethane, then the dichloromethane extracts were evaporated to dryness and residue of pyrimethanil and imidacloprid were dissolved in 5mL methanol. The methanol solutions obtained were analyzed by HPLC with HP1100 instrument fitted with ZORBAX, Eclipse XDB-C₁₈ column. The lowest detection limit of imidacloprid and pyrimethanil were 0.04 and 0.03mg/kg, respectively, and recoveries were 82.66%~91.73% and 92.76%~104.82%, respectively.

Keywords: cucumber; pyrimethanil; imidacloprid; residue; HPLC

extracted with dichloromethane, and cleaned in a column of frilasil. The residues were quantitatively analyzed by HPLC with C₁₈ column and UVD. The limit of detection for saizuolin was 1.5×10^{-10} g. Average recoveries of fortified samples in tomato and soil were 93.1%~113.1%, and 86.1%~106.5%, respectively. The coefficient of variation were 2.47%~8.72% and 1.36%~9.09% respectively.

Keywords: saizuolin; tomato; soil; residue; HPLC