

· 研究简报 ·

基质固相分散-高效液相色谱法测定 小麦籽粒中吡虫啉和啶虫脒残留

庞民好, 康占海, 陶 晔, 刘颖超*

(河北农业大学 植物保护学院, 河北 保定 071000)

摘要:建立了以 C₁₈键合硅胶作为固相分散剂, 高效液相色谱法同时测定小麦籽粒中吡虫啉和啶虫脒残留的分析方法。C₁₈键合硅胶与样品一起研磨均匀制成基质固相分散柱, 用乙腈淋洗, 浓缩后用高效液相色谱检测。结果表明: 吡虫啉在 0.05~0.8 mg/L、啶虫脒在 0.1~1.0 mg/L 的范围内线性良好, 相关系数分别为 0.999 6 和 0.999 7。在 0.05、0.1、0.5 mg/kg 水平时, 吡虫啉和啶虫脒的添加回收率分别在 88.5%~98.4% 和 93.2%~98.9% 之间, 相对标准偏差分别在 2.0%~3.8% 和 3.6%~9.8% 之间, 仪器最低检出量分别为 0.1 ng 和 0.4 ng, 方法最小检出浓度分别为 0.04 mg/kg 和 0.1 mg/kg。该方法简便、快速、溶剂消耗少, 满足农药残留分析的要求。

关键词: 吡虫啉; 啶虫脒; 基质固相分散; 高效液相色谱; 农药残留

中图分类号: O 657.72

文献标志码: A

文章编号: 1008-7303(2008)04-0491-04

Analysis of Imidacloprid and Acetamiprid Residue in Wheat Seeds by Matrix Solid-Phase Dispersion and High Performance Liquid Chromatography

PANG Min-hao, KANG Zhan-hai, TAO Yue, LIU Ying-chao

(College of Plant Protection, Agricultural University of Hebei, Baoding 071000, China)

Abstract Analytical method using matrix solid-phase dispersion (MSPD) clean-up for the analysis of imidacloprid and acetamiprid in wheat seeds was developed. Wheat seed sample was mixed in a glass mortar with a bonded-phase solid support material. Then the solid support and sample were manually blended together using a glass pestle. The blended material was packed into a column containing activated C₁₈ and eluted with acetonitrile. The eluate was concentrated and analyzed by high-performance liquid chromatography with ultraviolet detection. The linearity of response ranges of imidacloprid and acetamiprid was obtained from 0.05 to 0.8 mg/L and 0.1 to 1.0 mg/L, the correlation coefficient were 0.999 6 and 0.999 7, the recoveries ranged from 88.5% to 98.4% and from 93.2% to 98.9% respectively. At the fortified levels of 0.05, 0.1 and 0.5 μg/g, the relative standard deviations ranged from 2.0% to 3.8% and from 3.6% to 9.8%, the limit of detection were 0.1 ng and 0.4 ng, the limit of quantification were 0.04 mg/kg and 0.1 mg/kg respectively.

收稿日期: 2008-05-13 修回日期: 2008-07-10

作者简介: 庞民好 (1970-), 男, 河北曲阳人, 高级实验师, 主要从事农药质量、残留分析试验工作; * 通讯作者 (Author for correspondence): 刘颖超 (1968-), 女, 博士, 教授, 主要从事农药残留及农药毒理学研究。联系电话: 0312-7528173 E-mail liuyingchao@hebau.edu.cn

基金项目: 河北省自然科学基金 (C2007000465); 河北农业大学博士基金项目。

Key words imidacloprid, acetamiprid, matrix solid-phase dispersion, high performance liquid chromatography, residues

啉虫脒 (acetamiprid) 和吡虫啉 (imidacloprid) 分别是 1996 年和 1991 年由日本曹达株式会社和德国拜耳公司开发研制的, 同属于氯化烟碱类杀虫剂, 可用于防治对有机磷、氨基甲酸酯和拟除虫菊酯类农药产生抗性的害虫, 是原有杀虫剂的有效替代品^[1]。

近年来, 剧晓青^[2]等报道了以溶剂萃取、柱层析净化后经 HPLC 检测吡虫啉残留的方法; 李惠冬^[3]等报道了溶剂萃取、柱层析净化、GC 检测啉虫脒残留的方法, 但操作比较繁琐, 不能同时测定吡虫啉和啉虫脒。何松涛等^[4]采用振荡提取, 固相萃取净化的方法同时测定了蔬菜、水果中吡虫啉、啉虫脒的残留量, 但操作步骤多, 耗时较长, 有机溶剂的消耗量较大。

基质固相分散 (matrix solid-phase dispersion, MSPD) 是类似于固相萃取的一种提取、净化、富集技术, 1989 由 Steven Barker^[5]首次提出并给以理论解释。M. Garcia-Lopez 等^[6]综述了基质固相分散的适用范围、优缺点, 并对其应用前景进行了展望。该方法的优点在于成本低, 不需要昂贵的仪器设备, 有机溶剂和所需样品量均较少, 提取和净化可一步完成, 分析速度提高, 更适于自动化分析。该技术目前在国外已被广泛用于分离动物组织、水果和蔬菜中的药物、除草剂、杀虫剂及其它污染物^[7], 但均为单残留分析。本试验采用基质固相分散-高效液相色谱检测, 同时测定小麦籽粒中残留的吡虫啉和啉虫脒, 并对分散基质的种类及用量进行了研究, 与报道的方法相比, 本方法简便快速, 提取净化一步完成, 溶剂消耗量少。

1 材料与方 法

1.1 仪器与试剂

1200 高效液相色谱仪配可变紫外检测器、色谱工作站 (美国 Agilent 公司); 色谱柱 ZORBAX SB-C₁₈ 粒径 5 μm, 250 mm × 4.6 mm (美国 Agilent 公司); Sartorius 电子分析天平; MTN-2800D 氮吹仪; FW-80 万能粉碎机。

啉虫脒 (acetamiprid) 标样 (97.0%) 和吡虫啉

(imidacloprid) 标样 (97.3%), 由河北威远农药化工有限公司提供; C₁₈ 键合硅胶, 粒径 60~75 μm (天津市贺氏科技有限公司产品); Fbrasil 硅土 (北京康林科技有限公司); 乙腈和甲醇 (色谱纯), 其余试剂均为分析纯。

1.2 试验方法

1.2.1 样品处理 取小麦籽粒 20 g 去除土块、麦糠等杂质, 用万能粉碎机粉碎 3 min, 过 60 目 (300 μm) 筛备用。

1.2.2 基质固相分散小柱的制备 准确称取 0.50 g 小麦粉放入玻璃研钵中, 加入 0.5 mL 去离子水溶胀 5 min, 依次加入无水硫酸钠 1 g, C₁₈ 键合硅胶 1 g 充分研磨 5 min, 取 1 只 10 mL 注射器, 底部垫圆形滤纸片, 将研磨好的基质填入注射器内, 顶部再加一圆滤纸片以防止基质流失, 最后用注射器活塞压实制得基质柱。

1.2.3 样品的洗脱 用 12 mL 乙腈分 3 次洗涤研钵并转入基质柱内, 控制流速 1 mL/min, 收集洗脱液 10 mL, 用氮吹仪浓缩至少于 0.5 mL, 用乙腈定容至 0.5 mL, 过 0.45 μm 滤膜待测。

1.2.4 色谱条件 柱温: 25°C; 流动相: 乙腈 + 水 + 氨水 = 25 + 75 + 0.2 (V/V); 流速 1 mL/min; 检测波长 270 nm; 进样量 10 μL。在此条件下样品与干扰物质完全分离, 吡虫啉保留时间为 8.5 min, 啉虫脒保留时间为 10.1 min。色谱图见图 1~3。

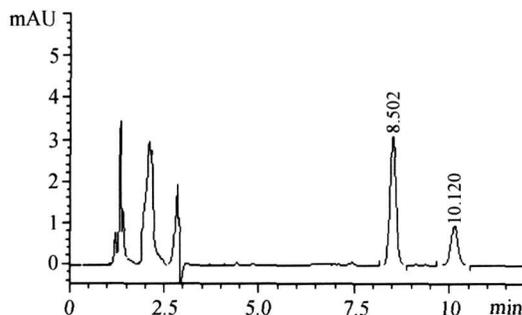


图 1 吡虫啉、啉虫脒标样液相色谱图

Fig 1 HPLC chromatogram of imidacloprid and acetamiprid standard

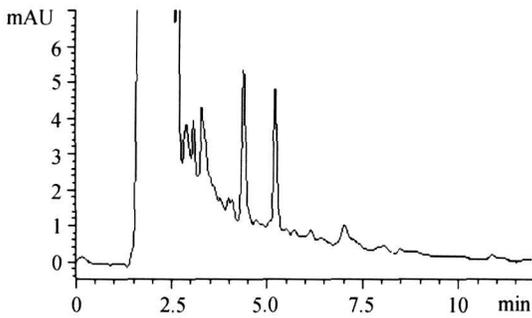


图2 空白小麦籽粒样品液相色谱图

Fig. 2 HPLC chromatograph of the control sample

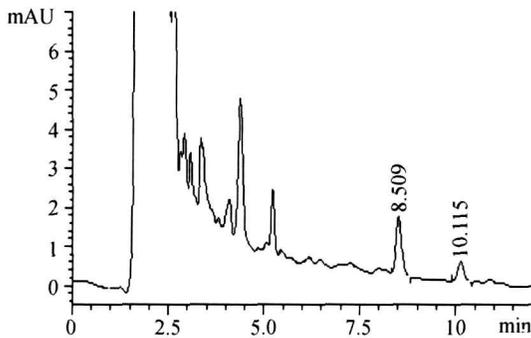


图3 小麦籽粒 0.1 mg/kg 添加液相色谱图

Fig. 3 HPLC chromatograph of wheat seeds with 0.1 mg/kg imidacloprid and acetamiprid

2 结果与分析

2.1 固相分散基质及其用量的选择

参考文献^[8]方法, 分别选择 C_{18} 键合硅胶、Florisil 硅土和两种固相分散剂与样品以 2:1(质量比)的比例一起研磨 5 min, 用 10 mL 乙腈淋洗, 考察其对添加回收率及净化效果的影响。Florisil 硅土对样品吸附能力强, 不易洗脱, 回收率仅为 10% 左右; C_{18} 键合硅胶的回收率较高, 但也仅能达到 50% 左右; 加入去离子水溶胀 5 min 后再加入无水硫酸钠及 C_{18} 键合硅胶一起研磨, 吡虫啉、啉虫脒的回收率均可达到 85% 以上, 净化效果达到要求, 最终选用 C_{18} 键合硅胶作为固相分散剂。

选择 C_{18} 键合硅胶与样品质量比分别为 1:1、2:1、3:1, 考察其对添加回收率及净化效果的影响。当质量比为 1:1 时, 淋洗液中杂质较多有干扰峰; 质量比为 3:1 时, 淋洗液中杂质少净化效果好, 但用 10 mL 乙腈淋洗回收率较低; 当质量比为 2:1 时, 淋洗液中杂质较少、无干扰峰、回收率较高。因此确定 C_{18} 键合硅胶的用量为样品量的 2 倍。

2.2 淋洗溶剂及其用量的选择

分别用乙腈、甲醇为洗脱剂进行洗脱, 先以每 2 mL 收集 1 份进行检测, 10 mL 后, 每 5 mL 收集 1 份, 计算累计回收率。收集 5 份后, 乙腈洗脱的吡虫啉累计回收率为 99.1%, 啉虫脒累计回收率为 98.2%, 10 mL 后吡虫啉、啉虫脒累计回收率基本不再增加, 甲醇洗脱的吡虫啉收集 5 份后, 累计回收率为 67.5%, 啉虫脒累计回收率为 45.8%, 甲醇洗脱 20 mL 后吡虫啉累计回收率为 98.2%, 啉虫脒累计回收率为 74.3%。综合考虑回收率和溶剂用量, 最终选用乙腈为洗脱剂, 用量为 10 mL。吡虫啉、啉虫脒(添加水平为 1 mg/kg)时的洗脱曲线见图 4。

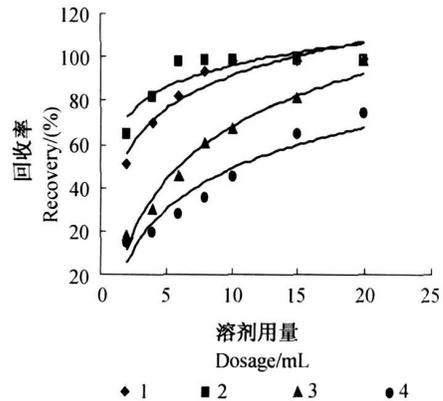


图4 吡虫啉、啉虫脒洗脱曲线

Fig. 4 The elution curve of imidacloprid and acetamiprid

1. 吡虫啉/乙腈; 2. 啉虫脒/乙腈; 3. 吡虫啉/甲醇; 4. 啉虫脒/甲醇
1. Imidacloprid with acetonitrile; 2. Acetamiprid with acetonitrile;
3. Imidacloprid with methanol; 4. Acetamiprid with methanol

2.3 液相色谱流动相的优化

选用甲醇和乙腈为有机相, 对其与水的不同比例进行试验, 其中乙腈-水的体积比为 25:75 时样品与杂质的分离度较好, 但未完全分离; 加入体积分数为 0.2% 的氨水后, 吡虫啉、啉虫脒的保留时间均有所增加, 与杂质峰分离完全, 无干扰。最终选用的流动相组成为: 乙腈 + 水 + 氨水 = 25 + 75 + 0.2(体积比)。

2.4 标准曲线的绘制

分别准确称取啉虫脒标样 100.0 mg, 吡虫啉标样 50.0 mg 于 100 mL 容量瓶中, 用乙腈溶解并定容至刻度, 用流动相稀释使啉虫脒的浓度分别为 0.05、0.1、0.2、0.4、0.8 mg/L; 吡虫啉的浓度分别为 0.1、0.2、0.4、0.8、1.0 mg/L。按 1.2.4 节色

谱条件检测,以浓度为横坐标、峰面积为纵坐标绘制标准曲线(见图5)。吡虫啉线性回归方程为 $y = 59.416x + 0.725$,线性相关系数 $r^2 = 0.9996$,啶虫脒线性回归方程为 $y = 21.767x + 0.5967$,线性相关系数 $r^2 = 0.9997$ 。

2.5 回收率与检出限

吡虫啉、啶虫脒均按 0.05、0.1、0.5 mg/kg 3个浓度水平进行添加回收率试验,重复3次,分别以

噪声的3倍和10倍,确定仪器的最小检出量(LOD)和方法的最低检测浓度(LOQ),结果见表1。添加浓度在 0.05~0.5 mg/kg 范围内,吡虫啉的平均回收率为 88.5%~98.4%,相对标准偏差为 2.0%~3.8%,最小检出量为 0.1 ng,最低检测浓度 0.04 mg/kg,啶虫脒的平均回收率为 93.2%~98.9%,相对标准偏差为 3.6%~9.8%,最小检出量为 0.4 ng,最低检测浓度 0.1 mg/kg。

表1 小麦籽粒中吡虫啉、啶虫脒添加回收率

Table 1 Recovery of imidacloprid and acetamiprid in wheat seeds

杀虫剂 Insecticide	添加水平 Fortified level/(mg/kg)	回收率 Recovery(%)			平均回收率 Average recovery (%)	相对标准 偏差 RSD (%)	最小检出量 LOD/(ng)	最低检测 浓度 LOQ/(mg/kg)
		1	2	3				
吡虫啉 imidacloprid	0.05	91.8	85.1	88.5	88.5	3.8		
	0.1	97.8	96.2	101.2	98.4	2.6	0.1	0.04
	0.5	94.9	98.6	96.9	96.8	2.0		
啶虫脒 acetamiprid	0.05	93.2	84.3	102.1	93.2	9.8		
	0.1	99.8	104.2	90.9	98.3	6.9	0.4	0.1
	0.5	98.9	102.4	95.3	98.9	3.6		

3 结论

建立了以 C₁₈ 键合硅胶为固相分散剂,用高效液相色谱法同时测定小麦籽粒中残留的吡虫啉和啶虫脒的残留分析方法。吡虫啉在 0.05~0.8 mg/L、啶虫脒在 0.1~1.0 mg/L 的范围内线性良好,相关系数分别为 0.9996、0.9997,添加回收率分别在 88.5%~98.4% 和 93.2%~98.9% 之间,相对标准偏差分别在 2.0%~3.8% 和 3.6%~9.8% 之间,LOD 分别为 0.1 和 0.4 ng,LOQ 分别为 0.04 和 0.1 mg/kg。根据农业部颁发的农业行业标准,吡虫啉在小麦籽粒中的最大残留限量为 0.05 mg/kg^[9],啶虫脒在小麦籽粒中的最大残留限量为 0.5 mg/kg^[10],本方法符合农药残留分析的要求。

本试验采用基质固相分散法,提取、净化一步完成,简化了操作步骤,减少了样品的损失,降低了操作难度,提高了回收率,同时极大地减少了样品和有机溶剂的消耗量,减少了对环境的污染。另外吡虫啉、啶虫脒可以同时检测,减少了工作量,提高了工作效率。

参考文献:

- [1] YU Qin(虞琴), QIN Shu(秦曙), WANG Xia(王霞), et al. 温度、光照及生物因子对啶虫脒和吡虫啉在油菜叶面消解的影响 [J]. Chin J Pestic Sci(农药学报), 2006, 8(2): 147-151
- [2] JI Xiao-qing(剧晓青), DENG Xin-ping(邓新平), LUO

- Gong-shu(罗公树), et al. 吡虫啉在茶叶和茶园土壤中的残留研究 [J]. J Southwest Agric Univ (Nat Sci)(西南农业大学学报,自然科学版), 2006, 28(3): 471-474
- [3] LI Hui-dong(李慧冬), CHEN Zi-lei(陈子雷), WANG Wen-bo(王文博), et al. 啶虫脒在西兰花中的残留测定 [J]. Agrom chemicals(农药), 2007, 46(6): 403-404
- [4] HE Song-tao(何松涛), YU Ye(俞晔), YI Xiao-juan(乙小娟), et al. 固相萃取-高效液相色谱同时测定水果蔬菜中吡虫啉、啶虫脒残留量 [J]. Inspection and Quarantine Science(检验检疫科学), 2006, 16(3): 49-51.
- [5] BARKER S A. Application of Matrix Solid-Phase Dispersion in Food Analysis [J]. Chromatography, A, 2000, 880: 63-68.
- [6] GARCÍA-LÓPEZ M, CANOSA P, RODRÍGUEZ I Trends and Recent Applications of Matrix Solid-Phase Dispersion [J]. Anal Bioanal Chem, 2008, 391: 963-974.
- [7] ALBERO B, SANCHEZ-BRUNETE C, TADEO J L. Determination of Organophosphorus Pesticides in Fruit Juices by Matrix Solid-Phase Dispersion and Gas Chromatography [J]. J Agric Food Chem, 2003, 51: 6915-6921
- [8] WANG Li-xia(王丽霞), KOU Li-juan(寇立娟), PANG Feng-yun(潘峰云), et al. 基质固相分散-液相色谱-质谱法测定蔬菜中的邻苯二甲酸酯 [J]. Chin J Anal Chem(分析化学), 2007, 35(11): 1559-1564.
- [9] NY 1500 5 2- 2007 吡虫啉在小麦(籽粒)中的最大残留限量标准 [S]. Beijing(北京): Ministry of Agriculture(农业部), 2007.
- [10] NY 1500 8 1- 2007. 啶虫脒在小麦(籽粒)中的最大残留限量标准 [S]. Beijing(北京): Ministry of Agriculture(农业部), 2007.

(Ed JIN SH)