

◆ 环境与残留 ◆

高效液相色谱法测定蔬菜和土壤中氯虫苯甲酰胺 甲氧虫酰肼的残留

占绣萍, 马琳, 陈建波

(上海市农业技术推广服务中心, 上海 201103)

摘要: 建立了同时测定蔬菜 (黄瓜、青菜、豇豆、卷心菜、番茄)、土壤中氯虫苯甲酰胺和甲氧虫酰肼农药残留的高效液相色谱法。蔬菜以乙腈高速匀浆提取, 过 NH_2 小柱净化, 再用甲醇定容。而土壤样品较干净, 经乙腈振荡提取 1 h, 浓缩后定容过膜即可。采用甲醇-乙腈-水为流动相, 利用 C_{18} 柱和紫外检测器 (检测波长: 230 nm) 对待测组分进行了分离和测定。实验证明, 添加浓度在 0.05 mg/kg、0.4 mg/kg 和 1mg/kg 时, 蔬菜和土壤中氯虫苯甲酰胺和甲氧虫酰肼平均添加回收率在 87.6%~114.4%之间, 相对标准偏差 (RSD) < 10%, 氯虫苯甲酰胺和甲氧虫酰肼在样品中的最低检出浓度为 0.05 mg/kg, 最小检出量为 1 ng。

关键词: 氯虫苯甲酰胺; 甲氧虫酰肼; 液相色谱; 残留

中图分类号: TQ 450.2+63 **文献标识码:** A **doi:** 10.3969/j.issn.1671-5284.2010.05.013

Study on Chlorantraniliprole and Methoxyfenozide Residue in Vegetables and Soil by HPLC

ZHAN Xiu-ping, MA Lin, CHEN Jian-bo

(Shanghai Agriculture Technical Extension Service Center, Shanghai 201103, China)

Abstract: A high performance liquid chromatography (HPLC) method was developed for the determination of chlorantraniliprole and methoxyfenozide in vegetables (cucumber, greengrocery, cowpea, cabbage and tomato) and soil. The residues of vegetable and soil samples were extracted with acetonitrile, and vegetable samples were cleaned up with NH_2 Solid-phase extraction, and condensed to dry. Determinations of analytes were completed using HPLC with DAD detection at 230 nm. Under HPLC conditions, The fortified recoveries of phenazine-1-carboxylic acid in straw, chaff and unpolished grain were in range of 87.6%-114.4%, with relative standard deviations less than 10%. and the minimum determination concentration was 0.05 mg/kg in these samples, the detectable limit of chlorantraniliprole and methoxyfenozide was estimated to be 1 ng.

Key words: chlorantraniliprole; methoxyfenozide; HPLC; residue

氯虫苯甲酰胺 (chlorantraniliprole) 是美国杜邦公司开发出来的一类高效低毒的邻甲酰氨基苯甲酰胺类杀虫剂, 其主要通过作用于昆虫鱼尼丁受体而表现出杀虫活性。甲氧虫酰肼 (methoxyfenozide) 是美国陶氏益农公司开发出来的新一代双酰肼类昆虫生长调节剂, 可诱使害虫过早蜕皮, 从而相对快速地抑制昆虫进食。氯虫苯甲酰胺和甲氧虫酰肼在我国蔬菜生产中得到广泛使用, 防治对

有机磷、拟除虫菊酯类农药产生抗药性的鳞翅目害虫均有特效。2008 年、2009 年, 上海市农业技术推广服务中心先后将这两种农药列为“上海市重点推荐农药品种”。但大量使用农药对环境和食品不可避免带来潜在危机。国内外关于氯虫苯甲酰胺和甲氧虫酰肼残留的单独检测已有报道^[1-5], 但在蔬菜、土壤上同时测定这两种农药残留, 国内外尚未见报道。

收稿日期: 2010-03-23

作者简介: 占绣萍 (1983—), 女, 江西省乐平市人, 农药学硕士, 从事农药残留分析研究工作。Tel: 021-64052181

本文选择了黄瓜 (瓜类)、青菜 (叶菜类)、豇豆 (豆类)、卷心菜 (甘蓝类)、番茄 (茄果类) 5 种代表性的蔬菜及土壤样品, 经乙腈提取, 过固相萃取小柱净化, HPLC 测定。该方法准确、快速、简便, 完全能满足农药残留检测的要求。

1 试验部分

1.1 仪器、试剂和材料

Agilent1200 高效液相色谱仪 (带 DAD 检测器), 高速匀浆分散器 (T25DS25, 德国制造), 电热恒温水浴锅 (GB11240-89, 上海), 氮吹浓缩器 (AC-401, 安徽黄山), 恒温振荡器 (国华 SHAC, 江苏), 离心机 (TDL-5-A, 江苏)。

氯虫苯甲酰胺纯度 98.0%, 甲氧虫酰肼纯度 98.5%, 北京天和安业科技有限公司提供。Venusil XBP-C₁₈ 反相色谱柱 (天津艾杰尔科技有限公司); NH₂-SPE 小柱 (Agela 公司)。

试剂: 乙腈、二氯甲烷、氯化钠等为分析纯, 液相色谱仪所用甲醇、乙腈为色谱纯、高纯水。

1.2 色谱条件

色谱柱: 25 cm×4.6 mm×5 μm 不锈钢柱, 内填 Venusil XBP-C₁₈, 柱温 45℃, 流动相为甲醇-乙腈-水。采用梯度洗脱程序, 0 min 时, 水溶液 100%; 4 min 时, V(水):V(乙腈):V(甲醇)=35:15:50; 8 min 时, V(水):V(乙腈):V(甲醇)=5:65:30; 整个分析过程中, 流速为 1.0 mL/min, 进样量 20 μL, 停止时间 14 min, 延迟 2 min。使用紫外检测器, 检测波长 230 nm。

1.3 试验方法

1.3.1 提取

土壤: 称取 25 g 样品加入到 250 mL 三角瓶中, 加 50 mL 乙腈振荡提取 1 h, 将提取液转移至离心试管中, 以 3 000 r/min 的速度离心 5 min, 吸取上清液 10 mL。

蔬菜: 称取 25 g 样品加入到 250 mL 三角瓶中, 加入 50 mL 乙腈, 在匀浆机中高速匀浆 2 min 后用滤纸过滤, 滤液收集到装有 5~7 g 氯化钠的 100 mL 具塞量筒中, 盖上盖子, 剧烈震荡 1 min, 室温下静止 30 min, 吸取上清液 10 mL。

1.3.2 净化

土壤: 将吸取的上清液在 50℃ 的水浴温度下, 氮吹蒸发至近干, 用乙甲醇定容, 混匀后用 0.45 μm 滤膜过滤, 待测。

蔬菜: 将吸取的上清液在 50℃ 的水浴温度下, 氮吹蒸发至近干。用 4 mL 甲醇预淋 SPE 小柱, 用 10 mL 甲醇-二氯甲烷溶液 [V(甲醇):V(二氯甲烷)=5:95] 分两次转移提取液, 过 SPE 小柱, 收集淋洗液。吹干, 甲醇定容, 过膜, 待测。

2 结果与讨论

2.1 流动相与色谱条件的选择

实验中分别对流动相乙腈-水、甲醇-水、甲醇-乙腈-水的不同配比进行了比较选择, 结果表明乙腈-水的梯度进样, 色谱分离效果较甲醇-水的更好, 所测两种农药分离较好, 灵敏度也较高, 但分析时间较早; 而选择甲醇-乙腈-水的梯度进样, 两种农药的分离效果也较好, 分析时间稍晚一些, 但这样能与样品中的杂质完全分离开, 因而选择了甲醇-乙腈-水 3 种混合溶剂作为流动相。

在检测波长的选择上, 根据紫外扫描结果, 氯虫苯甲酰胺、甲氧虫酰肼在 190~400 nm 的波长范围内进行扫描, 这两种农药除了在 200 nm 处有最大吸收外并无其他明显吸收峰, 其吸收波长的强度随检测波长的增大而减少。当检测波长为 200 nm 时, 农药标样的峰面积很大, 但是杂质和溶剂也有很大的吸收, 样品、溶剂和杂质等分开不完全。实际样品检测过程中发现检测波长在 230 nm 处杂质干扰较小, 且样品响应值较高。因此选择了 230 nm 作为这两种农药的检测波长。

2.2 净化方法比较

不同蔬菜中样品基质复杂, 故提取后还需净化才能完成样品的检测分析。本文选择了过 NH₂ 小柱, 选择 V(甲醇):V(二氯甲烷)=1:99、5:95、10:90、50:50 4 个不同比例淋洗液来净化, 检测结果发现当甲醇比例≤10%时, 蔬菜样品添加回收率基本满足要求。在 1:99、5:95、10:90 3 种配比的淋洗液净化中发现, 随着甲醇比例增加, 淋洗出的色素也加深, 对色素较深的绿叶菜易产生杂质干扰, 且对色谱柱的损耗较大。因此试验结果表明用 1:99 和 5:95 的淋洗液能更好地满足方法的要求, 且保护色谱柱。

2.3 标准曲线、最小检出量与最低检出浓度

分别称取 0.05 g 氯虫苯甲酰胺和甲氧虫酰肼标样, 甲醇定容至 50 mL, 配制 1 000 mg/L 的单标母液, 取一定量的母液, 分别稀释成 0.2、0.5、1、5、10、25 mg/L 6 个不同浓度的标准溶液, 摇匀, 按照

1.2 仪器检测条件, 以峰面积 Y 为纵坐标, 浓度 X (mg/L) 为横坐标进行线性回归分析, 得到氯虫苯甲酰胺和甲氧虫酰肼线性回归方程分别为 $y=52.813x+1.5913$ ($R^2=0.9998$), $y=43.621x-0.1221$ ($R^2=1$)。标准曲线图见图 1。仪器最小检出量 1×10^{-9} g, 在蔬菜及土壤中的最低检测浓度为 0.05 mg/L。

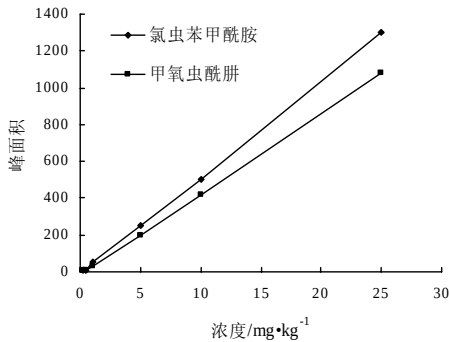


图 1 氯虫苯甲酰胺和甲氧虫酰肼标样的标准曲线图

2.4 回收率实验

分别在卷心菜、番茄、黄瓜、青菜、豇豆、空白蔬菜及空白土壤样品中加入 3 种浓度的标样氯虫苯甲酰胺和甲氧虫酰肼混标, 按上述方法对样品进行提取、净化、色谱测定后, 计算添加回收率, 结果如表 1 所示, 这两种农药在样品之间的平均添加回收率为 87.6%~114.4%; 变异系数 (CV) 为 0.25%~8.6%。

氯虫苯甲酰胺和甲氧虫酰肼标样出峰时间分别为 10.1、10.7 min。标样、土壤和蔬菜样品空白、样品添加回收色谱图见图 2~图 14。

3 结论

研究并建立了一种采用高效液相色谱仪测定

蔬菜和土壤中残留量的分析方法。该方法具有干扰少, 操作简便, 准确度和灵敏度较高的特点^[6]。在 3 档添加浓度下, 本方法的平均回收率在 87.6%~114.4%, 最低检出浓度为 0.05 mg/kg, 均满足残留测定要求。

美国规定氯虫苯甲酰胺在蔬菜上的最大残留限量 (MRL) 为 0.25~13 mg/kg, 葫芦类蔬菜 MRL 为 0.25 mg/kg、果类蔬菜为 0.70 mg/kg、叶类蔬菜为 13 mg/kg; 日本已制定了甲氧虫酰肼在大多数蔬菜和水果上的最大残留限量, 蔬菜 MRL 值在 0.1~10 mg/kg 之间, 十字花科蔬菜 MRL 为 10 mg/kg, 辣椒为 3 mg/kg, 番茄为 2 mg/kg, 黄瓜为 2 mg/kg。我国暂未制定这两种农药在蔬菜上的最大残留限量值。本文建立了多种类蔬菜和土壤中的氯虫苯甲酰胺及甲氧虫酰肼的残留量检测方法, 以期为该类型新型杀虫剂品种科学合理使用的建立和环境安全性评价提供科学基础。

表1 回收率 (R, %) 结果及变异系数 (CV, %, n=3)

样品	农药	0.05 mg/kg		0.4 mg/kg		1 mg/kg	
		R	CV	R	CV	R	CV
土壤	氯虫苯甲酰胺	89.4	4.2	90.0	1.1	88.4	2.10
	甲氧虫酰肼	101.8	8.6	103.2	4.7	97.1	1.90
黄瓜	氯虫苯甲酰胺	105.7	5.0	95.4	2.0	96.4	1.80
	甲氧虫酰肼	103.0	6.0	100.5	2.7	94.6	4.20
青菜	氯虫苯甲酰胺	101.2	0.85	93.4	3.9	89.1	3.30
	甲氧虫酰肼	94.6	6.7	99.8	1.7	95.0	4.90
豇豆	氯虫苯甲酰胺	87.6	3.2	89.2	7.1	112.1	0.25
	甲氧虫酰肼	98.2	2.9	93.5	2.7	102.6	1.40
卷心菜	氯虫苯甲酰胺	103.1	3.9	106.0	5.3	111.1	2.00
	甲氧虫酰肼	102.7	4.7	107.8	3.7	116.6	2.30
番茄	氯虫苯甲酰胺	105.6	5.5	110.1	2.3	113.7	0.88
	甲氧虫酰肼	109.7	2.8	114.4	2.4	111.8	1.70

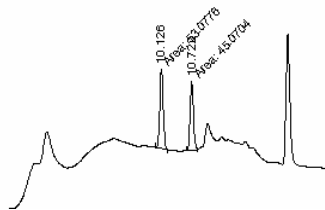


图 2 氯虫苯甲酰胺和甲氧虫酰肼标样



图 3 土壤空白

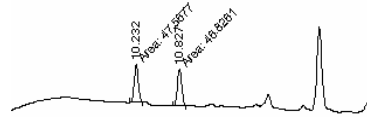


图 4 土壤添加回收

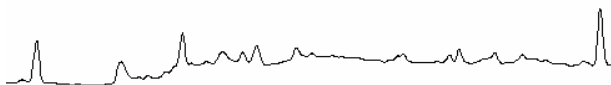


图 5 黄瓜空白



图 6 黄瓜添加回收

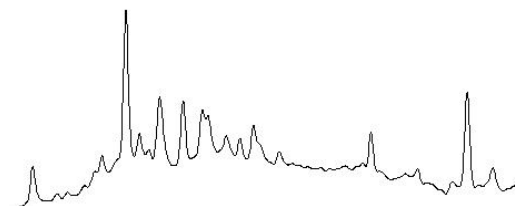


图7 青菜空白

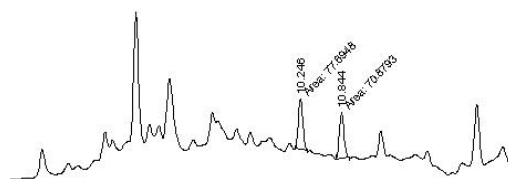


图8 青菜添加回收



图9 豇豆空白

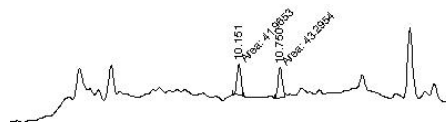


图10 豇豆添加回收

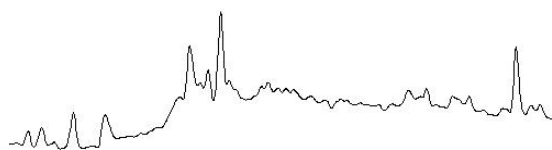


图11 卷心菜空白

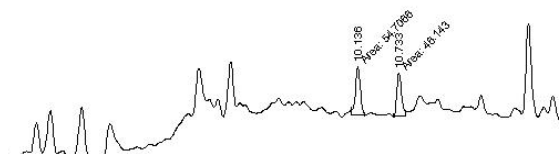


图12 卷心菜添加回收

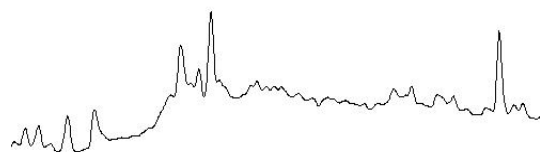


图13 番茄空白

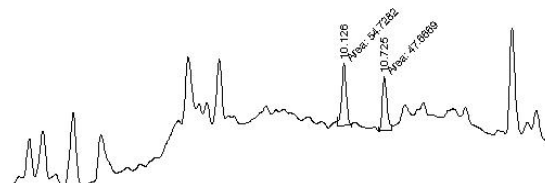


图14 番茄添加回收

参考文献

- [1] 毛江胜, 赵善仓, 邓立刚, 等. 高效液相色谱法测定菠菜中残留的甲氧虫酰肼 [J]. 农药, 2006, 45 (2): 121 - 122.
- [2] 步海燕, 欧晓明, 马俊凯, 等. 高效液相色谱法测定水体中的氯虫酰胺残留量 [J]. 光谱实验室, 2008, 25 (6): 1230 - 1234.
- [3] 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、甲氧虫酰肼和吡虫啉虫酰肼残留 [J]. 现代科学仪器, 2006,

(3): 55 - 58.

- [4] US EPA. Tolerances and Exemption from Tolerances for Pesticide Chemicals in Food [J/OL]. http://a257.g.akamaitech.net/7/257/2422/08aug20051500/edocket.access.gpo.gov/cfr_2005/julqtr/pdf/40cfr180.482.pdf
- [5] US EPA. Chlorantraniliprole: Time-Limited Pesticide Tolerances [J]. *Frdrral Register*, 2007, 72 (94): 27452 - 27456.
- [6] 樊德方. 农药残留检测量检测与分析 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1982.

(上接第31页)

胺作为催化剂的催化反应原理尚存在一定的差异, 探索三乙醇胺的催化反应机理, 改进草甘膦合成工艺, 才能为提高草甘膦合成收率创造良好条件。

参考文献

- [1] 古同照. 草甘膦性质与衍生物 [J]. 贵州化工, 1997, (4): 10 - 12.
- [2] 胡跃华. 国内草甘膦生产工艺述评 [J]. 农药, 1996, 35 (8): 33 - 35.
- [3] 朱红兵. 我国草甘膦除草剂的现状及发展 [J]. 化工时刊, 2002, (1): 53 - 54.

- [4] 赵卫东, 周月国, 张辉. IDA法草甘膦工艺优化探讨 [J]. 现代农药, 2006, 5 (4): 13 - 20.
- [5] Catherine P, Emmanuel L, Hedi L, *et al.* Research Note Effect of the Nature of Carbon Catalysts on Glyphosate Synthesis [J]. *Journal of Catalysis*, 1999, 182: 515 - 519.
- [6] 郭建敏, 来虎钦, 丁成荣, 等. 草甘膦的合成新工艺研究 [J]. 浙江工业大学学报, 2009, 37 (3): 276 - 278.
- [7] 邵振威, 秦大伟, 陈静, 等. 氨气法草甘膦母液处理工艺研究 [J]. 杭州化工, 2007, 37 (3): 34 - 37.